5(1)

V.36 USINC

o XXXVI - Vol. XV (*nuova serie*) - Fasc. 1 **Gennaio-Giugno 1960**

NISTERO DELL'AGRICOLTURA E DELLE FORESTE

BORATORIO CENTRALE DI IDROBIOLOGIA

ND

LIBRARY

DEC 8 1961

FISH & WILDLIFE SERVICE

BOLLETTINO

PESCA, PISCICOLTURA E IDROBIOLOGIA

(Note e memorie scientifiche)

ISTITUTO POLIGRAFICO DELLO STATO - ROMA

CONDIZIONI DI VENDITA PER IL 1959

ITALIA abbonamento annuo (1). . **L. 1000**
» *un fascicolo* . . . . . » **600**

ESTERO abbonamento annuo . . » **2000**
» *un fascicolo* . . . . . » **1200**

(1) Comprensivo d'I.G.E. e dell'imposta sul bollo

Il versamento va eseguito sul c/c Postale 1/2640 intestato all'Istituto Poligrafico dello Stato – Libreria dello Stato – Roma.

N. B. — I fascicoli disguidati debbono essere richiesti non appena perviene quello successivo.

Per qualunque comunicazione riguardante il presente Bollettino, come per il cambio con altri periodici o pubblicazioni, si prega di rivolgersi unicamente al LABORATORIO CENTRALE DI IDROBIOLOGIA, Piazza Borghese, 91 – Roma.

On prie d'adresser toutes les communications et même les publications envoyées en change directement au LABORATORIO CENTRALE DI IDROBIOLOGIA, Piazza Borghese, 91 – Rome (Italie).

For any communication regarding this bulletin please adress only to LABORATORIO CENTRALE DI IDROBIOLOGIA, Piazza Borghese, 91 – Rome (Italy). The same for any change with other periodicals and publications.

Für jede Mitteilung an diese Zeitschrift, Tausch mit anderen Veröffentlichungen, Druchschriften, usw., bitten wir sich an das LABORATORIO CENTRALE DI IDROBIOLOGIA, Piazza Borghese 91, Rom (Italien) wenden zu wollen.

o XXXVI - Vol. XV *(nuova serie)* - Fasc. 1 **Gennaio-Giugno 1960**

NISTERO DELL'AGRICOLTURA E DELLE FORESTE
BORATORIO CENTRALE DI IDROBIOLOGIA

BOLLETTINO

PESCA, PISCICOLTURA E IDROBIOLOGIA

(Note e memorie scientifiche)

ISTITUTO POLIGRAFICO DELLO STATO - ROMA

Redattore: Prof. GABRIELLA CANNICCI GIACOMETTI

(8107474) Roma 1961 - Istituto Poligrafico dello Stato - G. C.

INDICE

ELVEZIO GHIRARDELLI: Istologia e citologia degli stadi di maturità nei Chetognati *Pag.* 5

ANTONIO SPARTÀ: Biologia e pesca di *Tetrapturus belone* Raf. e sue forme post-larvali ..... » 20

CESARE F.° SACCHI: Note ecologiche sui Briozoi del lago salmastro litoraneo di Patria (Napoli) ..... » 25

ERNESTO SOMMANI: Il *Salmo marmoratus* Cuv.: sua origine e distribuzione nell'Italia Settentrionale ..... » 40

ANTONIO MONTEFREDINE e CONCETTA TESTA: Fenomeni alterativi del pesce e metodi chimici per il loro riconoscimento ..... » 48

GIORGIO BINI: Attacco documentato di pescecane (*Charcharodon charcharias*) .... » 136

Digitized by the Internet Archive
in 2025

https://archive.org/details/bollettino-pesca-piscicoltura-idrobiologia_january-june-1960_36_1

ISTOLOGIA E CITOLOGIA DEGLI STADI DI MATURITÀ NEI CHETOGNATI

ELVEZIO GHIRARDELLI

ISTITUTO DI ZOOLOGIA DELL'UNIVERSITÀ DI BOLOGNA

Gli studi sui cicli di maturità sessuale nei Chetognati sono stati generalmente connessi ad altre ricerche e particolarmente a quelle che avevano come fine la utilizzazione di questi organismi come indicatori ecologici (Russel, 1932; Clarke, 1943; Cannicci, 1959). D'altra parte i dati così raccolti possono anche avere una certa importanza pratica ai fini della pesca, perché è stato dimostrato che può esistere un rapporto fra la distribuzione dei Chetognati e quella di alcuni pesci. Le Brasseur (1959), ad esempio, ha potuto constatare che lungo le coste dell'Alasca *Sagitta lyra* è più abbondante in quelle acque che a m. 150 di profondità hanno una temperatura superiore a 6° ed una salinità maggiore del 33 ‰. Nelle acque che presentano queste caratteristiche le catture del salmone (*Oncorhynchus sp.*) sono invece assai scarse.

Dopo quella di Kramp (1917) che è stata la prima, sono state proposte parecchie classificazioni degli stadi di maturità dei Chetognati. Il numero degli stadi descritti può variare da uno a sei, secondo gli Autori. Russel (1932), che è uno dei più seguiti, basa la sua classificazione su tre stadi soltanto, mentre Colman (1959) ne riconosce sei. Alcuni AA. poi, tengono conto soltanto degli aspetti dell'ovario, altri, invece, considerano anche quelli del testicolo.

Non mi dilungo su questo punto perchè una più completa trattazione dell'argomento è riportata in una mia precedente nota alla quale rimando per maggiori dettagli (Ghirardelli, 1959 a, 1960).

Devo però far notare che nonostante la molteplicità delle classificazioni degli stadi di maturità, non è mai stato fatto un completo studio comparativo fra gli aspetti delle gonadi dei Chetognati rilevabili ad un modico ingrandimento, (come si fa durante l'esame delle raccolte di plancton) ed i corrispondenti aspetti istologici e citologici. Ritengo invece che ciò sia indispensabile per un più razionale ed uniforme apprezzamento degli stadi di maturità, data anche l'importanza che può avere per le ricerche ecologiche l'adozione di uguali criteri di valutazione (Tregouboff, 1960).

Per queste ragioni ho iniziato lo studio citologico degli stadi di maturità, che del resto rientra nell'ambito delle mie ricerche sulla morfologia delle gonadi e sulla ovogenesi e spermatogenesi dei Chetognati.

I primi risultati si riferiscono a *Sagitta inflata* Grassi. Ho scelto questa specie perchè già in passato (Ghirardelli, 1951) ne avevo fatto oggetto di

un lavoro nel quale avevo proposto una scala di quattro stadi di maturità sia per l'ovario che per il testicolo. Le figure 1 e 2 sono tratte dal lavoro citato ed illustrano i risultati più significativi ottenuti nel 1951, risultati che ora riassumerò brevemente.

Nella figura 1 sono riportati i valori percentuali delle frequenze riferite a ciascuno degli stadi di maturità dei testicoli e degli ovari in 500 esemplari di *S. inflata* raccolti durante i mesi di luglio ed agosto del 1951. Gli individui i cui testicoli sono in stadi avanzati di maturità sono in numero superiore rispetto a quelli le cui gonadi maschili sono nei primi stadi di evoluzione (in bianco). Per quanto riguarda gli ovari (in nero), invece, il numero degli individui nel II e III stadio subisce una flessione rispetto al I ed al IV; ciò può essere messo in rapporto con la brevità degli stadi terminali della auxocitosi o anche, come vedremo in seguito, con la esistenza di più fasi di maturità nella gonade femminile.

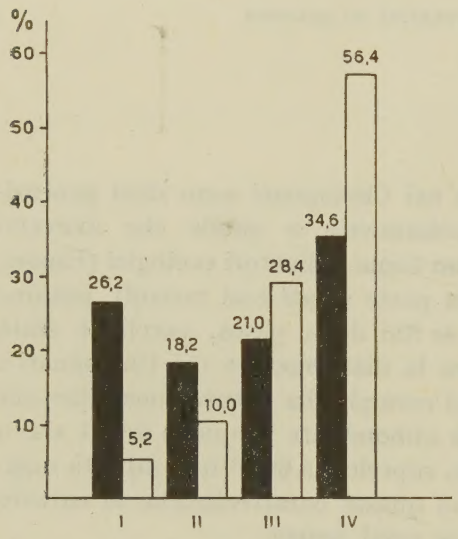


FIG. 1. — Distribuzione delle frequenze degli individui in ciascuno degli stadi di maturità. In nero stadi di maturità degli ovari. In bianco stadi di maturità dei testicoli.

La figura 2, si riferisce agli stadi di maturità delle gonadi maschili e femminili esaminate comparativamente esemplare per esemplare. Nella parte bassa della figura sono indicate le percentuali degli individui le cui gonadi eterologhe si trovano negli stadi indicati sotto a ciascun rettangolo; le cifre romane si riferiscono agli stadi di maturità dei testicoli, quelle arabe agli stadi di maturità degli ovari.

Nella parte alta della figura 2 sono riportate le percentuali totali che si riferiscono alle quattro condizioni rilevate. Queste percentuali sono state ottenute sommando i valori che, nella parte bassa della figura, sono riportati sopra i rettangoli rappresentati con lo stesso disegno. Da esse si deduce che solo l'1 % degli esemplari esaminati aveva le gonadi maschili in uno stato di maturità meno avanzato di quello degli ovari. Nel 9,8 % dei casi le gonadi immature erano in stadi corrispondenti; il 32,8 % aveva le gonadi maschili e femminili completamente sviluppate e mature ed infine il 56,6 % presentava i testicoli in stadi di maturità più avanzati di quelli degli ovari (1).

Dall'esame dei dati sopra riportati ero giunto alla conclusione che in *S. inflata* del Golfo di Napoli vi possono essere almeno due periodi di maturità delle gonadi femminili, preceduti da due periodi di maturità dei testicoli. Dovrò tornare su questo argomento nelle conclusioni della presente nota e per tanto non mi ci soffermo più a lungo; riassumerò invece la descrizione di ciascuno degli stadi di maturità che avevo data nel mio lavoro precedente,

(1) L'arrotondamento dei decimali è stato fatto in eccesso.

completandola con i dati che si riferiscono agli aspetti citologici di ognuno degli stadi considerati.

Credo però opportuno premettere che quando parlerò di *stadi di maturità* mi riferirò allo stadio di sviluppo delle gonadi, mentre i *periodi di accre-*

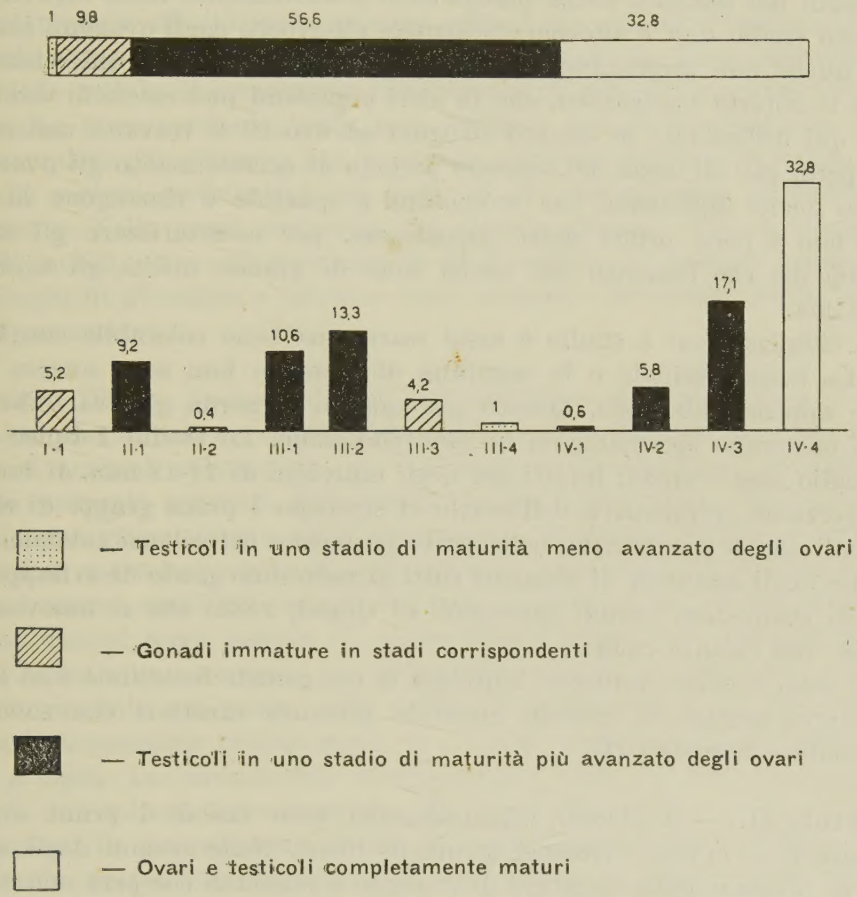


Fig. 2. — Stadi di maturità delle gonadi maschili e femminili esaminate comparativamente individuo per individuo. (Per maggiori spiegazioni vedere il testo).

scimento riguardano soltanto l'aspetto degli ovociti, secondo la classificazione proposta da Vannini (1954) sulla base delle caratteristiche dei nuclei e del citoplasma nelle successive fasi dell'accumulo delle ribonucleoproteine nel citoplasma e della vitellogenesi.

Stadio I. — Gli ovari sono già visibili addossati anteriormente al setto caudale; posteriormente al setto medesimo si vedono i testicoli. Nelle sezioni fatte sugli esemplari più piccoli (mm. 7-11) si osservano soltanto degli ovogoni in moltiplicazione. Negli esemplari un poco più grandi vi sono anche degli ovociti al primo periodo di accrescimento o anche all'inizio del secondo. Attorno al nucleo che presenta gli stadi sinaptici vi sono numerosi granuli pironinofili e siderofili. Si tratta della cosidetta rete nucleare o sostanza cro-

midiale degli Autori (Büchner, 1910; Stevens, 1910; Bordas, 1920) che molto probabilmente ha funzioni paragonabili a quelle del nucleolo che manca negli ovociti dei Chetognati, e che sarebbe appunto sostituito dalla « rete nucleare ».

Gli stadi sinaptici si osservano con qualche difficoltà a causa delle piccole dimensioni dei nuclei o anche perchè sono probabilmente assai fugaci. Inoltre in questo stadio non è agevole distinguere gli ovociti dagli ovogoni, sia perchè i loro nuclei non presentano chiari caratteri che valgano a differenziarli, sia perchè il criterio topografico, che in altri organismi può essere di valido aiuto non è qui utilizzabile in quanto ovogoni ed ovociti si trovano assieme. Siccome però, già all'inizio del secondo periodo di accrescimento gli ovociti presentano nuclei diplotenici con cromosomi a spazzola e rimangono in questo stadio fino a poco prima della deposizione, per caratterizzare gli stadi di maturità più che l'aspetto dei nuclei sono di grande utilità gli aspetti del citoplasma.

Il citoplasma al I stadio è assai scarso ma bene colorabile con la pironina. La tasca seminale e la semiluna di sostegno non sono ancora visibili o sono appena abbozzate. Questo per quanto riguarda gli ovari. Nel testicolo si osservano spermatogoni in moltiplicazione. Lo stadio I tipico è però uno stadio assai rapido; infatti già negli individui di 11-12 mm. di lunghezza dalla porzione germinativa dell'ovario si staccano i primi gruppi di elementi germinali che si accumulano nella parte posteriore del celoma caudale. Questi formano degli ammassi di elementi tutti al medesimo grado di sviluppo (*poliplasti* di Bolles-Lee, *cumuli spermatici* di Grassi, 1883) che si muovono attivamente nel celoma caudale.

Vi sono dunque numerosi individui la cui gonade femminile è al I stadio di sviluppo, mentre la gonade maschile presenta caratteri che sono tipici dello stadio successivo (1).

Stadio II. — A piccolo ingrandimento sono visibili i primi ovociti e nel testicolo si notano elementi germinali liberi. Nelle sezioni degli ovari si rileva la presenza della struttura di sostegno a semiluna che però non è ancora completamente sviluppata. Al centro di essa vi sono degli ovociti di 1° ordine nel primo periodo di accrescimento; nei loro nuclei sono ancora evidenti gli stadi sinaptici. Questi ovociti non presentano una uniforme distribuzione, ma sono disposti in piccoli ammassi che si succedono piuttosto irregolarmente sulla linea mediana della semiluna per tutta la lunghezza dell'ovario. Essi sono assai piccoli, i loro nuclei hanno diametri variabili fra i 5 ed i 10 μ. Accanto ai più piccoli ovociti, al centro, ma più spesso sulle ali della semiluna ve ne sono altri di maggiori dimensioni al secondo periodo di accrescimento, i cui cromosomi diplotenici hanno il caratteristico aspetto di cromosomi a spazzola. Il diametro di questi ovociti è di 35-40 μ mentre quello dei loro nuclei è di poco inferiore, 25-30 μ circa.

---

(1) Le sezioni sono state colorate con l'ematossilina ferrica, la miscela di verde di metile e pironina in soluzione tamponata secondo Gerola e Vannini (1949) o la reazione di Feulgen.

Nell'ovario vi possono però anche essere ovociti di 100 μ di diametro all'inizio del terzo periodo di accrescimento. Al II stadio tipico questi ovociti mancano o sono poco numerosi. La rete nucleare è alquanto più sviluppata che non nello stadio precedente. Il citoplasma degli ovociti è assai ricco di RNA. Di solito gli ovociti al secondo periodo di accrescimento sono quelli che presentano la massima affinità per la pironina, affinità che sembra accentuarsi quando gli ovociti stessi si mettono in comunicazione con la tasca seminale per mezzo delle cellule di sospensione che formano il cosidetto apparato di fecondazione. La tasca seminale però, non contiene ancora spermatozoi e anzi, negli esemplari più giovani, non è ancora completamente sviluppata.

Nella regione germinativa del testicolo gli spermatogoni si moltiplicano attivamente. Nella parte posteriore del celoma caudale dove si trovano gli elementi mobili, oltre agli spermatociti di 1° ordine vi possono essere anche spermatociti di 2° ordine e talvolta negli esemplari più grandi anche spermatidi e spermatozoi.

Stadio III. — Anche a debole ingrandimento gli ovociti sono ben visibili, tanto che si possono facilmente distinguere i loro nuclei. Il testicolo è ripieno di « cumuli spermatici » in movimento. Cominciano a svilupparsi anche le vescicole seminali. Nelle sezioni la semiluna è bene evidente, la tasca seminale può già contenere degli spermatozoi. Si vedono anche gli ovociti al primo ed al secondo periodo di accrescimento addossati alla semiluna; i più piccoli al centro, quelli di dimensioni maggiori sulle ali. Gli ovociti più grandi, che sono cioè al terzo periodo di accrescimento, sono posti medialmente nell'ovario e non sono a contatto con la semiluna con la maggior parte della loro superficie ma solo per mezzo delle cellule di fecondazione. In questo stadio gli ovociti aumentano rapidamente di volume, il loro diametro maggiore è di 150 μ circa. La pironinofilia citoplasmatica tende ad attenuarsi, il che è indice di una minore concentrazione di ribonucleoproteine. Si è iniziata la vitellogenesi. Le granulazioni attorno al nucleo sono meno evidenti che non nello stadio precedente; l'apparato di sospensione è invece assai ben sviluppato.

Nel testicolo vi è una maggior quantità di elementi germinali liberi. Le vescicole seminali cominciano a svilupparsi, ma sono ancora vuote.

Stadio IV. — Gli ovari allo stadio IV sono al massimo grado di sviluppo. Gli ovociti sono quasi tutti alla fine del terzo periodo di accrescimento; soltanto addossati alla semiluna ve ne sono ancora alcuni al primo ed al secondo periodo. Il diametro dei più grossi ovociti è di 200 μ circa; essi hanno dunque dimensioni assai vicine a quelle delle uova al momento della deposizione e sono ancora inseriti sulla semiluna per mezzo delle cellule di fecondazione che si insinuano fra gli ovociti più giovani.

Allo stadio IV sono riferibili anche gli esemplari che hanno ovociti in metafase I. Ricordo che tutti i grossi ovociti di entrambi gli ovari entrano simultaneamente in metafase e sono riconoscibili perchè i loro nuclei non

sono più visibili a modico ingrandimento e per una certa maggiore opacità in vivo del loro citoplasma. Nelle sezioni si osserva il caratteristico fuso a fibre parallele. Dopo mezz'ora circa dalla scomparsa della membrana nucleare gli ovociti passano nell'ovidutto temporaneo, che si forma in seguito allo scollamento dei due foglietti della parete della tasca seminale; in conseguenza delle reciproche pressioni alle quali essi sono sottoposti assumono spesso contorni poligonali (Ghirardelli, 1959-*b*).

La tasca seminale contiene sempre moltissimi spermatozoi, i quali riempiono anche il testicolo e le vescicole seminali che sono sempre bene sviluppate. Sulle vescicole seminali si notano le caratteristiche calotte emisferiche.

Come si è visto le differenze riguardanti il testicolo, a partire dal II stadio, sono principalmente di carattere quantitativo. Tuttavia se si tiene conto anche dell'aspetto delle vescicole seminali è possibile definire in modo abbastanza preciso i quattro stadi di maturità. Per quanto riguarda gli ovari, invece, gli stadi di maturità possono essere più facilmente differenziati specialmente se si fa corrispondere a ciascuno di essi un ben definito momento dell'accrescimento degli ovociti.

Non credo sia utile e nemmeno facile, definire un maggiore numero di stadi di maturità; bisognerebbe infatti tener conto di stadi intermedi, talvolta di brevissima durata le cui caratteristiche non possono sempre essere documentate con sufficiente precisione. Per quelle specie, le cui forme giovanili sono molto trasparenti, si potrebbe tuttavia tener conto di uno stadio iniziale proposto da Colman (1959) e al quale dovrebbero essere riferiti quegli esemplari giovani le cui gonadi non sono ancora visibili al binoculare ad un ingrandimento di 100x. È però opportuno precisare che in *S. inflata* ed in altri Chetognati, anche se non sono visibili le gonadi organizzate, si possono sempre vedere molto bene le cellule germinali primordiali addossate al setto caudale.

La classificazione degli stadi di maturità, che ora propongo, può essere considerata un completamento di quella che avevo utilizzato nel mio lavoro del 1951. Le differenze che si riscontrano fra le due classificazioni sono legate principalmente alla esigenza alla quale ho accennato di far corrispondere a ciascuno stadio di maturità aspetti citologicamente ed istologicamente ben definibili del processo di maturazione degli elementi germinali maschili e femminili. Per quanto riguarda l'ovario, non sono sempre gli ovociti più numerosi quelli che caratterizzano gli stadi di maturità, ma i più voluminosi, quelli cioè, che sono visibili anche a piccolo ingrandimento negli esemplari interi e che, rispetto agli ovociti più piccoli dello stesso ovario, si trovano in stadi più avanzati del processo di accrescimento.

Nella tabella seguente, che è già stata presentata alla XVII Assemblea plenaria della Commissione internazionale per l'esplorazione del Mediterraneo sono riassunti i dati più salienti che si riferiscono ai caratteri delle gonadi in ciascuno degli stadi considerati. Bisogna naturalmente tener conto anche della notevole variabilità che si riscontra nell'ambito di ciascuno stadio

erché, a prescindere da ogni altra considerazione, i processi di maturazione i svolgono con continuità.

Nella figura 3 sono rappresentati schematicamente gli aspetti tipici degli tadi di maturità ai quali si riferiscono le descrizioni della tabella I.

Potranno ora essere opportune, prima di giungere alle conclusioni, alcune onsiderazioni di carattere generale.

Alla fine dello stadio IV le uova vengono deposte e questo processo deter-ina nell'ovario cambiamenti assai notevoli. Intanto le uova passando nello vidutto temporaneo, attraversano le pareti della tasca seminale e provocano spostamento degli ovociti a contatto di essa e lo scollamento delle sue areti così che i primitivi rapporti topografici sono notevolmente alterati. uccessivamente si ha un rimaneggiamento di tutti gli elementi che costitui-ono l'ovario, in seguito al quale le pareti della tasca seminale riacquistano loro caratteristiche ed i più piccoli ovociti di dispongono di nuovo nella ormale posizione (Ghirardelli, 1959-*b*, figure 3, 4, 5). Nell'ovario si trovano, ra, soltanto piccoli ovociti e pertanto esso può presentare un aspetto che rende simile a quello degli ovari degli esemplari più giovani, che per la rima volta si trovino allo stadio II o alla fine del I. Di solito però è possibile vitare ogni confusione, perchè in questi esemplari gli ovociti al secondo pe-iodo sono in numero minore di quelli che si trovano negli ovari al II stadio. a parete dell'ovario, spesso, nella regione mediana non è a contatto con gli vociti. Un altro utile criterio differenziale è offerto dal grado di sviluppo ella tasca seminale e dalla presenza nella tasca stessa degli spermatozoi.

Ritengo però superfluo, per ora, fissare un altro stadio di maturità per uesti individui perchè, sotto l'aspetto citologico, essi sono al II stadio o l massimo alla fine del I.

Le modificazioni del testicolo dopo l'emissione delle spermatofore sono ieno appariscenti di quelle descritte a proposito dell'ovario. La più vistosa a carico delle vescicole seminali, che si svuotano e perdono le loro calotte aratteristiche. Dopo lo svuotamento delle vescicole seminali i testicoli assu-iono un aspetto simile a quello che avevano nel precedente stadio III; ono infatti del tutto inapprezzabili le modificazioni del celoma caudale n seguito alla emissione degli spermasozoi, essendo piccola la quantità di ssi che, di volta in volta, passa dal celoma caudale alle vescicole semi-ali. (Subito dopo lo svuotamento le vescicole cominciano a riempirsi di uovo e si vedono gli spermi passare attivamente, attraverso il deferente, al testicolo alle vescicole stesse). Il testicolo potrebbe assumere un aspetto ncora più immaturo di quello che ha allo stadio III, solo nel caso della emis-ione successiva di parecchie spermatofore in un tempo molto breve e sempre he la maturazione di altre cellule germinali maschili non sia sufficiente-ente rapida per rimpiazzare nel celoma caudale gli spermatozoi che vengono messi; a sostegno di queste ipotesi non vi sono però osservazioni dirette.

Le modificazioni che la gonade maschile presenta dopo lo svuotamento elle vescicole seminali sono però sufficienti per spiegare la presenza fra gli semplari di *S. inflata* del Golfo di Napoli di un piccolo numero di individui

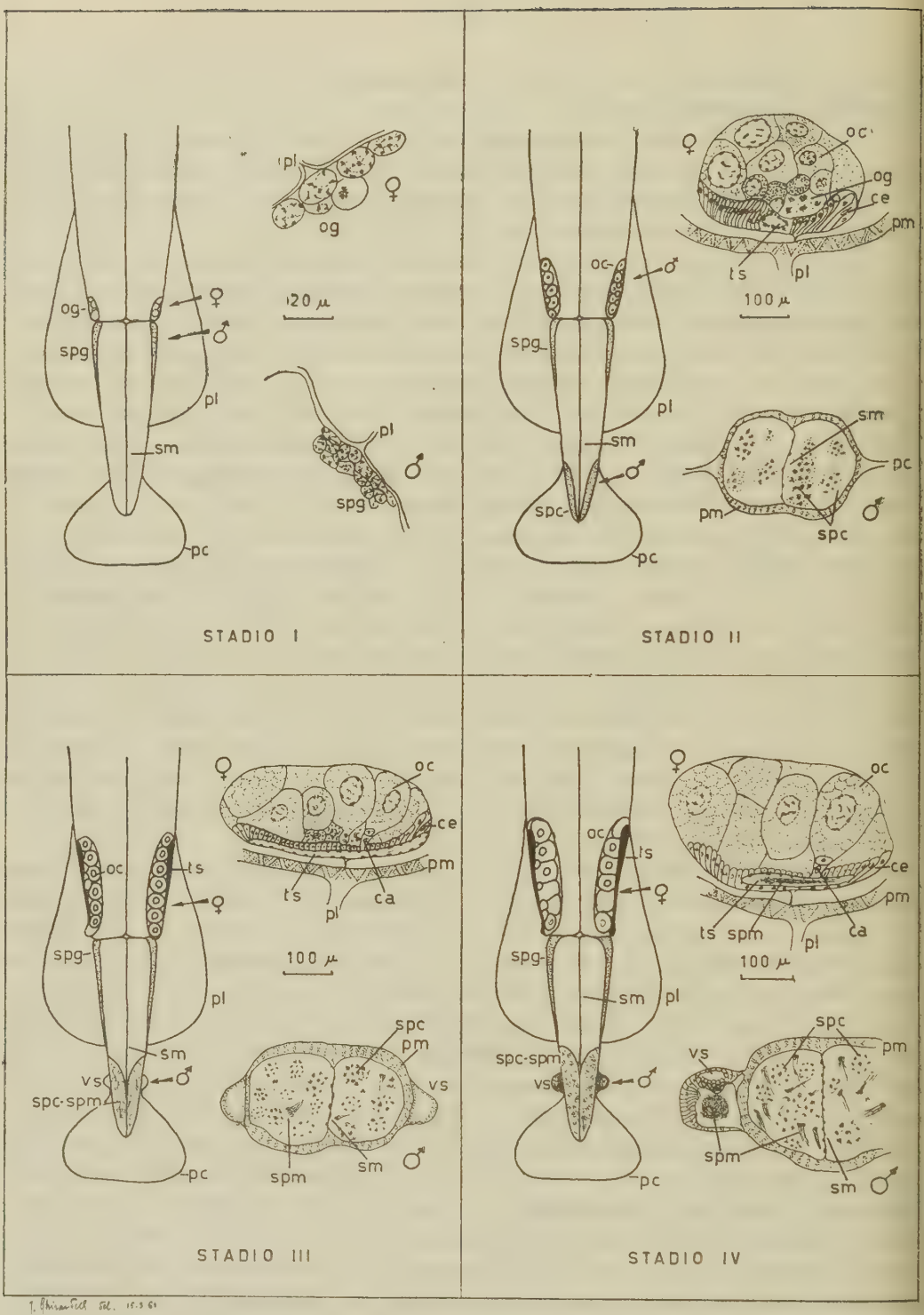


FIG. 3. — Per ciascuno stadio, a sinistra: segno schematico della parte posteriore del corpo di *Sagitta inflata*; le frecce indicano approssimativamente i livelli delle sezioni rappresentate a destra. A destra in alto: disegno schematico delle sezioni degli ovari; a destra in basso: disegni schematici delle sezioni dei testicoli. *ca*, cellule di fecondazione (apparecchio di sospensione); *ce*, semiluna (formazione epiteliale di sostegno); *oc*, ovociti; *og*, ovogoni; *pc*, pinna caudale; *pl*, pinne laterali posteriori; *pm*, parete muscolare del corpo; *sm*, setto mediano; *spc*, spermatociti di 1° e 2° ordine; *spg*, spermatogoni; *spm*, spermatozoi; *vs*, tasca seminale; *vs*, vescicole seminali.

Tabella I

OVARI	TESTICOLI
Stadio 0	**Stadio 0**
binoculare. Ingrandimento 100 x. — Gonadi non visibili; nelle specie trasparenti si possono scorgere i gonociti primari.	*Al binoculare. Ingrandimento* 100 x. — Gonadi non visibili; nelle specie trasparenti si possono scorgere i gonociti primari.
lle sezioni. — Gonociti primordiali.	*Nelle sezioni.* — Gonociti primordiali.
Stadio I	**Stadio I**
binoculare. — Gonadi poco sviluppate; anno l'aspetto di un piccolo ammasso eggermente allungate fatto di cellule sfeiche.	*Al binoculare.* — Testicoli visibili benché assai piccoli. Non vi sono cellule germinali maschili libere nel celoma caudale.
lle sezioni. — Ovogoni in moltiplicazione. Ovociti di 1° ordine al primo periodo di accrescimento o all'inizio del secondo. Stadi sinaptici nel nucleo. Citoplasma scarso ma ben colorabile. Granulazioni perinucleari presenti. Tasca seminale e semiluna non ancora formate.	*Nelle sezioni.* — Spermatogoni in moltiplicazione.
Stadio II	**Stadio II**
binoculare. — Ovociti piccoli ma ben riconoscibili.	*Al binoculare.* — Primi elementi germinali liberi nel celoma caudale.
lle sezioni. — Ovociti al secondo periodo di accrescimento, alcuni possono anche essere all'inizio del terzo. Granulazioni attorno al nucleo più numerose che non nello stadio precedente. Cromosoni « lampbrush ». Citoplasma molto colorabile. Gli ovociti al secondo periodo di accrescimento entrano in contatto con la tasca seminale per mezzo delle cellule di fecondazione.	*Nelle sezioni.* — Spermatogoni in moltiplicazione. Piccoli ammassi di spermatociti di 1° e 2° ordine liberi nel celoma caudale.

Segue TABELLA I

OVARI	TESTICOLI
STADIO III	STADIO III
Al binoculare. — Ovociti di grandi dimensioni nella parte mediana dell'ovario. Più piccoli sulla linea laterale.	*Al binoculare.* — Numerosissimi ammassi globulari, di elementi germinali maschili molto mobili, liberi nel celoma caudale. Qualche volta sono già visibili i primi spermatozoi. Le vescicole seminali non sono ancora sviluppate.
Nelle sezioni. — Ovociti alla fine del secondo periodo di accrescimento, il maggior numero di essi, però si trova già al terzo. Citoplasma meno colorabile che non nello stadio precedente. Inclusi vitellini presenti. Nucleo grosso e vescicoloso. Cromosomi a spazzola tipici. Granulazioni attorno al nucleo ancora evidenti, anche se un poco più piccole di quelle osservabili allo stadio precedente. Semiluna, tasca seminale ed apparecchio di fecondazione ben sviluppati. Nella tasca seminale vi sono già degli spermatozoi.	*Nelle sezioni.* — Sono rappresentate tutte le fasi dell'evoluzione spermatogenetica.
STADIO IV	STADIO IV
Al binoculare. — Ovari ben sviluppati con ovociti, nella parte mediana, il cui volume è assai maggiore di quello degli ovociti della regione marginale. La membrana nucleare è scomparsa o sta per scomparire. Qualche volta gli ovociti presentano contorni poligonali.	*Al binoculare.* — Testicolo ripieno di elementi germinali e particolarmente di spermatozoi in attivo movimento. Vescicole seminali ben sviluppate con le loro caratteristiche ornamentazioni.
Nelle sezioni. — Ovociti alla fine del terzo periodo di accrescimento. Le granulazioni attorno al nucleo se sono ancora presenti, sono comunque molto piccole. Talvolta è visibile la 1ª metafase. Citoplasma scarsamente colorabile e solo in corrispondenza di formazioni granulari. Tasca seminale e apparato di fecondazione ben sviluppati. Abbondanti gli spermatozoi nell'interno della tasca seminale.	*Nelle sezioni.* — Tutti gli stadi della evoluzione spermatogenetica come allo stadio III, ma con predominanza di spermatozoi.

% come ho detto a proposito della fig. 2), il cui apparato riproduttore schile è rispetto all'ovario in uno stato di maturità meno avanzato. Questi evano l'ovario al IV stadio, mentre il testicolo era stato classificato al . Non si tratta di una eccezione alla abituale proterandria, ma solo di aspetto probabilmente assai fugace della gonade maschile, dovuto allo iotamento temporaneo delle vescicole seminali. Se il riempimento delle scicole seminali fosse più lento di quanto non sia in realtà o se esse una lta svuotatesi non tornassero a riempirsi, la percentuale suddetta dovrebbe ere molto probabilmente superiore all'1 %.

In ogni modo si tratta di un aspetto che interessa, nel suo complesso, ntero apparato riproduttore maschile o meglio ancora la regione del corpo cui si trova l'apparato stesso, più che il solo testicolo. La gonade maschile atti, già al III stadio e in alcuni casi anche al II può già essere conside- a matura se, come criterio di maturità, si adotta la presenza di sperma- oi liberi nel celoma caudale. Tuttavia un determinato individuo raggiunge piena funzionalità riproduttiva soltanto quando le sue vescicole seminali o completamente sviluppate.

Le considerazioni sopra esposte ed i risultati delle ricerche di altri Autori ssuti-Oliver, 1954; Furnestin, 1957, 1960) mi inducono a modificare almeno parte, soprattutto per ciò che si riferisce alla gonade maschile, le conclu- ni alle quali ero giunto nel 1951. Infatti, sulla base dei soli dati statistici, teva anche sembrar verosimile che il testicolo presentasse due successivi di di maturità, ma, come ho già in parte detto, l'esame istologico dimo- a che il testicolo stesso. una volta maturo resta in tale stato, anche se in riodi successivi gli spermatozoi possono essere prodotti in maggior quantità, anche se l'aspetto esterno dell'apparato riproduttore maschile cambia in guito alle modificazioni che intervegono a carico delle vescicole seminali. meno per quanto riguarda *S. inflata* sembra assai poco probabile, anche nsiderando l'intero ciclo vitale di un individuo e non un breve periodo, che testicolo possa passare da stadi di maturità completa a stadi di assoluta maturità, caratterizzati dalla mancanza di spermatozoi nel celoma caudale. cose stanno invece in modo diverso nella gonade femminile; infatti dopo emissione delle uova, nell'ovario restano soltanto degli ovociti i quali al ssimo sono al II periodo di accrescimento, dunque notevolmente imma- ri. Non si tratterebbe dunque di « proterandria ciclica » (Thomson, 1947) di proterandria nel senso più semplice ed abituale della parola, sia pure con riodi di più accentuata attività della gonade.

Le osservazioni riguardanti l'ovario possono spiegare la mancata corre- ione fra la lunghezza totale e la lunghezza degli ovari che è stata descritta *S. inflata* (Ghirardelli, 1947, 1951; Furnestin, 1957) ed in *Sagitta setosa* Mar Nero (Furnestin, 1960). È infatti evidente che dopo la deposizione le uova, l'ovario viene a trovarsi in uno stato di minore distensione e, data elasticità degli elementi tissurali dei Chetognati è anche possibile che o si raccorci. Naturalmente hanno l'ovario corto anche gli individui giovani.

Nel lavoro più volte citato (Ghirardelli, 1951) non mi era stato possibile precisare se le due forme di *S. inflata*, una ad ovari lunghi e l'altra ad ovari corti, trovate nel Golfo di Napoli fossero da considerare due razze distinte oppure due ecotipi. È probabile invece che si tratti di due aspetti legati alla maturità sessuale. Questa interpretazione può trovare conferma anche nei numerosi stadi di passaggio fra le due forme che *S. inflata* presenta nel Mar Rosso (Ghirardelli, 1948). A conclusioni analoghe, infine era arrivata sia pure per altra via anche la Furnestin (1957, 1960), che però non esclude eventuali influenze ambientali, data la diversa ripartizione numerica delle due forme in Atlantico e nel Mediterraneo.

Vi è poi un altro aspetto della questione che richiede ancora ulteriori conferme soprattutto dal punto di vista quantitativo e sul quale desidero soffermarmi brevemente. In *Spadella cephaloptera*, il numero di uova deposte a partire dalla primavera diminuisce gradualmente durante l'estate fino a ridursi da 20 e anche più a 1 o 2 al massimo nell'autunno avanzato. Contemporaneamente sembra che vada riducendosi anche la riserva di giovani ovociti. La lunghezza dell'ovario diminuisce notevolmente, infatti negli esemplari raccolti in primavera esso arriva anteriormente all'altezza del setto cefalico, mentre in quelli pescati in autunno talvolta non tocca la estremità posteriore del ganglio ventrale; così nel corso dell'anno vi possono essere esemplari i cui ovari presentano una notevole variabilità di lunghezza anche se riferita ad individui della stessa lunghezza totale che, però, potrebbero avere una diversa età.

È possibile che anche nei Chetognati pelagici possa verificarsi qualcosa di simile, ma, mentre in *Spadella* la lunghezza dell'ovario diminuisce dalla primavera all'autunno, in *S. inflata* si trovano assieme nello stesso periodo, esemplari con ovari lunghi e corti i quali per di più presentano una grande variabilità nella lunghezza totale. Se a questo si aggiungono le maggiori difficoltà con le quali possono essere fatte osservazioni sui Chetognati pelagici, ci si può facilmente rendere conto di quanto possa essere ardua una razionale ricerca in questo campo.

Questi problemi potranno a mio avviso essere avviati a soluzione quando ai dati rilevati sul materiale raccolto in mare potranno aggiungersi quelli dedotti dalle osservazioni fatte su allevamenti sperimentali, il che almeno per *Spadella* non dovrebbe presentare difficoltà insuperabili; solo in questo modo sarà possibile avere informazioni più esatte sulla durata dei cicli riproduttivi e sull'aspetto delle gonadi nei diversi momenti dei cicli stessi.

La utilità delle ricerche condotte a livello istologico e citologico resta comunque dimostrata già dai primi risultati esposti in questa nota, poichè di taluni fatti si è potuta dare una spiegazione più completa e fondata di quanto non fosse stato possibile sulla base delle sole ricerche biometriche, le quali, in ogni caso, trovano in quelle istologiche e citologiche un necessario completamento.

Riassunto

Viene proposta una classificazione dei cicli di attività delle gonadi dei etognati che comprende quattro stadi di maturità.

Essi sono stati fissati non soltanto sulla base dei caratteri morfologici evabili a modico ingrandimento sugli animali interi, ma anche e principalnte, sugli aspetti citologici ed istologici. Per quanto si riferisce agli ovoi si è tenuto conto in modo particolare delle caratteristiche che essi preitano nei successivi periodi di accrescimento.

È stata confermata la proterandria di *S. inflata* del Golfo di Napoli e sistenza dei cicli successivi di attività delle gonadi. Le due forme di questa ecie presenti nel Golfo corrispondono probabilmente a momenti successivi lla evoluzione degli ovari.

Résumé

Pour étudier les cycles d'activité sexuelle chez les Chétognathes a été oposée une echelle de quatre stades de maturité.

Ces stades ont été fixés à la suite d'une étude qui avait pour but d'étair la correspondence entre les aspects des gonades tels qu'on peut les distiner aux faibles grossisements sur les animaux entiers, et leur cytologie et stologie.

Il a été possible de confirmer la protérandrie de *Sagitta inflata* de Naples ui, au moins, a deux periodes de maturité des ovaires. Les deux formes *S. inflata* qu'on trouve a Naples sont vraisemblablement liées à la succssions des cycles sexuels.

Summary

A classification of the gonad activity cycles in Chaetognatha based on our maturity stages is suggested.

These stages are established mainly on the histological and cytological haracters et not only on the morphological aspects seen at low magnification on the whole animals.

The stages of the oocytes are established chiefly on the characteristic spects they exhibit in the consecutive growing periods.

It is confirmed that *Sagitta inflata* of the Gulf of Naples is a protandric pecies having consecutive cycles of gonadal activity, wich can explain the xistence ot two morphological differentiated aspects.

Ringrazio i Direttori delle Stazioni Zoologiche di Villefranche sur Me e di Napoli ed il Direttore del Centro di Studio per la Biologia del C.N.R presso la Stazione Zoologica di Napoli per il materiale che mi hanno pro curato.

Un particolare ringraziamento anche ai prof. Trégouboff e Vannini per consigli ed i suggerimenti che mi hanno dato nel corso di questo lavoro.

Bologna, Istituto di Zoologia diretto dal prof. E. Vannini, 15 marzo 1961.

BIBLIOGRAFIA

Bordas M. (1920): *Estudio de la ovogénesis en la* Sagitta bipunctata. « Trab. Mus. Cienc nat. Ser. Zool. », 43, 1-119.

Buchner P. (1910): *Keimbahn und ovogenese von* Sagitta. « Anat. Anz. », 35, 433-443.

Cannicci G. (1959) : *Considerazioni sulla possibilità di stabilire « indicatori ecologici » ne plancton del Mediterraneo.* – Boll. Pesca, Piscicoltura e Idrob., XIV (n. s.), 2; p. 164-188

Clarke G. L., Pierce E. L., Bumpus F. D. (1943): *The distribution of* Sagitta elegans *o George Bank in relation to the Hudrographical conditions.* « Biol. Bull. », 85 (3), 201-226

Colman J. S. (1959): *The Rosaura Expedition* 1937-38. *Chaetagnatha.* « Bull. Brit. Mus Nat. Hist. «, 5 (8), 219-253.

Furnestin M. L. (1957): *Chaetognathes et Zooplancton du secteur Atlantique marocain.* « Rev Trav. Inst. Pêches marit. », 21 (1-2), 1-356.

Furnestin M. L. (1960): *Complements à l'etude de* Sagitta euxina *varieté de* Sagitta setosa « Rapp. Proc. Verb. Comm. int. Expl. Médit. » in corso di stampa, vol. XVI.

Ghirardelli E. (1947) : *Chetognati raccolti nel Mar Rosso e nell'Oceano Indiano dalla nav « Cherso ».* – Boll. Pesca, Piscicoltura e Idrob., II (n. s.), 2, p. 253-273.

Ghirardelli E. (1951): *Cicli di maturità sessuale delle gonadi di* Sagitta inflata Grass *del Golfo di Napoli.* « Boll. Zool. », XVIII (4-6), 149-162.

Ghirardelli E. (1959-a): *Habitat e biologia della riproduzione nei Chetognati.* « Arch. Ocenogr Limnol. », XI (3), 1-18.

Ghirardelli E. (1959-b) : *L'apparato riproduttore femminile nei Chetognati.* « Rend. Accad Naz. XL », X, 1-46.

Ghirardelli E. (1960): *Habitat e biologia della riproduzione nei Chetognati.* « Rapp. Proc Verb. Comm. int. Expl. Médit. », XV (2), 347-358.

Gerola F. M. e Vannini E. (1949): *La colorazione con verde di metile pironina nella ricerc degli acidi ribonucleici.* « Boll. Soc. Ital. Biol. Sperim. », 25, 644-646.

Grassi G. B. (1883): *I Chetognati.* « Fauna und Flora des Golfes von Neapel », Mon. V 1-126.

Kramp P. L. (1917): *Chaetognatha collected by Tjalfe Expedition to West-Coast of Greenlan in* 1908-09. « Vidensk. Medd. fra Dansk. Natur. Forens. », 69, 17-55.

Le Brasseur R. J. (1959): Sagitta lyra, *a biological indicator species in the subarctic water of the eastern Pacific Ocean.* « J. Fish. Res. Board Canada », 16 (6), 795-805.

SSUTI-OLIVER M. (1954): *Sobre la biologia de las* Sagitta *del plancton del Levante español.* « Pubbl. Inst. biologia aplicada », XVI, 137-147.

SSEL F. S. (1932): *On the biology of* Sagitta. *The Breeding and Growth of* Sagitta elegans *Verril in the Plymouth Area* 1930-31 « J. Mar. Biol. Ass. », 18, 131-145.

EVENS N. M. (1910): *Further studies on reproduction in* Sagitta. « J. Morph. », 21, 279-303.

OMSON J. M. (1947): *The Chaetognatha of South-eastern Australia.* « Council Sc. Ind. Res. Div. Fisheries Rep. 14 », *Bull.* 222, 3-43.

EGOUBOFF G. (1960): *Rapport du Président sur l'activité du Comité du plancton pendant la XVIeme Assemblée Plénière.* » Rap. Proc. Verb. Comm. int. Expl. Médit. », *XV* (2), 227-247.

NNINI E. (1954): *Il nucleolo nella vita della cellula.* « Boll. Zool. », *XXI* (2), 649-708.

BIOLOGIA E PESCA DI *TETRAPTURUS BELONE* RAF. E SUE FORME POST-LARVALI

ANTONIO SPARTÀ

ISTITUTO SPERIMENTALE TALASSOGRAFICO DI MESSINA

Da alcuni ricordato come frequente nelle acque della Sicilia; la sua pesca è, invece, assai limitata. La comparsa annuale è incostante; nello Stretto di Messina, ad esempio, in alcuni anni si rinvengono parecchie centinaia di esemplari di tale specie, mentre in altri ne sono segnalati appena qualche decina o meno.

Il Tetrapturo, a differenza del Pesce-spada, col quale, secondo alcuni AA. formava la sezione degli *Xifidi*, appartiene alla famiglia degli Istioforidi: è provvisto di pinne ventrali, rappresentate da pochi lunghi raggi, il secondo ne è privo. Il periodo di comparsa, generalmente, è nei mesi di agosto e settembre; raramente nei successivi ottobre e novembre. Qualche esemplare si pesca anche in inverno. Le zone preferite dal Tetrapturo sono quelle superficiali dello Stretto di Messina. Si rinviene, altresì, vicino alla costa o al largo nello Jonio fino oltre l'altezza di Giardini, e nel Tirreno è stato segnalato al largo di Scilla e Bagnara.

Si pesca con fiocine grandi, con palamidare, e in certi casi dopo circuizione con le reti usate per la pesca delle costardelle. Sono, a quanto pare, ghiotti di questi scomberesocidi, tanto che vengono frequentemente pescati nella stessa zona e nello stesso periodo.

Il peso medio degli esemplari, che si pescano nelle varie annate, è fra i 10 ed i 25 kg. c.; la lunghezza totale può superare i due metri.

Sulla maturità sessuale del *Tetrapturus belone*, e sulle zone di deposizione mancano notizie precise. Da un uovo rinvenuto da me (1) nel plancton dello Stretto di Messina nel mese di maggio 1952, attribuito, con verosimiglianza, alla specie in esame, e dagli stadi giovanili pescati in ottobre, una sola volta molti anni addietro, e riferibili anch'essi a tale forma, si può desumere che il periodo di deposizione si estenda ai mesi primaverili ed estivi. Dopo d'aver riassunti i dati delle uova e sulle larve alla schiusa ed al secondo giorno di vita, farò conoscere due rarissimi stadi post-larvali sicuramente attribuibili al *Tetrapturus belone*, che confermano esatta la diagnosi specifica delle uova

(1) SPARTÀ A.: *Uova e Larve di* Tetrapturus belone *Raf.* (*Aguglia imperiale*). « Boll. di Pesca, Piscicoltura e Idrobiologia », Anno XXIX, vol. VIII (n. s.), fasc. I.

larve, già da me data come probabile, ed escludono, per caratteristiche non bbie, i riferimenti di qualche A. di larve a questa specie.

In moltissimi anni di osservazioni e selezione del materiale planctonico e, quasi quotidianamente veniva pescato nello Stretto di Messina a cura ll'Istituto Talassografico, solo una volta ebbi fra le uova galleggianti un emplare, fecondato, da cui schiuse una larvetta il cui riferimento al Tetrauro per quanto sicuro, venne da me dato come verosimile.

Caratteristiche dell'uovo, quali: dimensioni di esso e della goccia, capsula n evidente reticolo, vitello a grandi vescicole e colorazione della goccia in ve giallo-verdastro e caratteri delle larve, conformazione generale del corpo, gmentazione sia sul vitello che sul corpo stesso, ed ai bordi della primorle del tronco caudale, concordanti con quelli della specie affine *Xiphias dius* L. non inducevano ad altro riferimento che a quello di *Tetrapturus one*. Riferimento che riceveva conferma dal fatto che il numero dei segnti in 24, 12 preanali e 12 post-anali coincideva perfettamente col numero lle vertebre dell'adulto di tale specie.

I due stadi in esame, rinvenuti nella spiaggia di Faro (Stretto di Mes-a) lasciativi dalla corrente e dai venti sciroccali, rappresentano una rarità, chè in circa 50 anni non si è avuto alcun altro esemplare, malgrado le tente ricerche. Questi stadi sono particolarmente interessanti, perchè mentre aggiungono alle ragioni dell'esatta determinazione delle uova e larve sopra enzionate, rappresentano un contributo notevole alla conoscenza dello svippo di tale specie e correggono errori diagnostici precedenti.

L'uovo (fig. 1, l. c.) sferico, galleggiante, con grande goccia oleosa e traspanza lievemente velata, simile a quella delle uova di Pesce-spada, misura m. 1,48 c. La goccia giallo-verdastra è di mm. 0,36 c. Capsula semplice, colore con evidente reticolo: vitello vescicolare, come in *Xiphias gladius*, grandi aie; spazio perivitellino piccolissimo. L'incubazione dura tre giorni ca: poco prima della schiusa l'embrione al suo massimo sviluppo (fig. 2, l. c.) conda, addossato alla capsula, tutto il vitello; presenta le vescicole ottiche condarie ed ampie otocisti: cromatofori neri ramificati nella regione cefaa, sul tronco, sul vitello e sulla goccia, ed un lievissimo alone giallognolo questa e sul corpo. L'uovo durante lo sviluppo aumenta di peso specifico, ffonda, e raggiunge il fondo del bicchiere con acqua marina in cui prima lleggiava. La curva di variazione per determinare la zona che raggiunge ovo in sviluppo potrà determinarsi col ritrovo di altre uova: cosa molto siderata e tentata finora senza esito. La larva (fig. 3, l. c.) schiude ad organizzione poco inoltrata, è lunga mm. 4,88 ed ha sacco vitellino abbondante goccia oleosa anteriore, che ricorda, per la posizione, quella del gen. *Coris*. pinna primordiale è ampia ed estesa; ha nei due lembi, dorsale e ventrale tronco caudale, simmetricamente, dal livello dell'ano al troncone, pigmento o a lineette ravvicinate, disuguali per un buon tratto. Altri cromatofori fini radiazioni: nella regione cefalica, sul vitello, sulla goccia e sul profilo rsale e ventrale del tronco: sul quale si contano 24 segmenti, di cui 12 eanali, numero identico a quello delle vertebre di tale specie.

Al secondo giorno di vita (fig. 4, l. c.) la larva lunga mm. 5,24 c. è ancora a sviluppo poco inoltrato: la bocca non è aperta nè sono accennati lo scheletro branchiale e la cartilagine del Meckel. Vitello assai ridotto e pigmentazione con lievi modifiche rispetto alla larva precedente. I segmenti sono in numero di 24. Nel mio lavoro, già citato, sono riportate le lunghezze e le altezze e sono dati cenni descrittivi più diffusi.

I due giovani stadi, che formano oggetto della presente nota, per la forma del corpo, compresso, allungato, fusiforme, con due creste sui lati del troncone caudale, ricordano le caratteristiche dell'adulto. Capo piuttosto tozzo, alto, muso oblungo, mascella superiore più lunga della inferiore, estendentesi notevolmente a lama; tutt'e due portano piccoli numerosi denti appuntiti e si estendono dall'estremità al profilo dell'occhio, la prima per mm. 18, la seconda per mm. 8. Tale rapporto non si mantiene nell'adulto. Lo spazio preanale e rispettivamente nei due stadi di mm. 19 e mm. 40. Le dimensioni generali del corpo, alle varie sezioni, nei due esemplari sono le seguenti:

	Esemplare di mm 29	Esemplare di mm 54
Lunghezze:		
Dall'estremità del prolungamento del mascellare superiore al profilo dell'occhio	8	18
Diametro orizzontale dell'occhio	2,50	4
Dal profilo posteriore dell'occhio al cinto toracico	2,50	5
Dal cinto toracico al profilo posteriore dell'ano	6	13,10
Dall'ano all'estremità posteriore del tronco	6	7,90
Dall'estremità posteriore del tronco all'estremità della pinna caudale	4	6
Base della prima dorsale	10,5	18
Base della seconda dorsale	1	2
Base della prima anale	2,7	3,3
Base della seconda anale	1	2
Altezze:		
Sulla mediana dell'occhio	2,5	4
Sulla tangente all'occhio	3,60	5
Sulla tangente al cingolo toracico	3,30	4,70
Al livello dell'ano	3	4
Al livello del peduncolo caudale	1,10	3
Altezza massima della pinna caudale	2,75	5

Fig. 1.

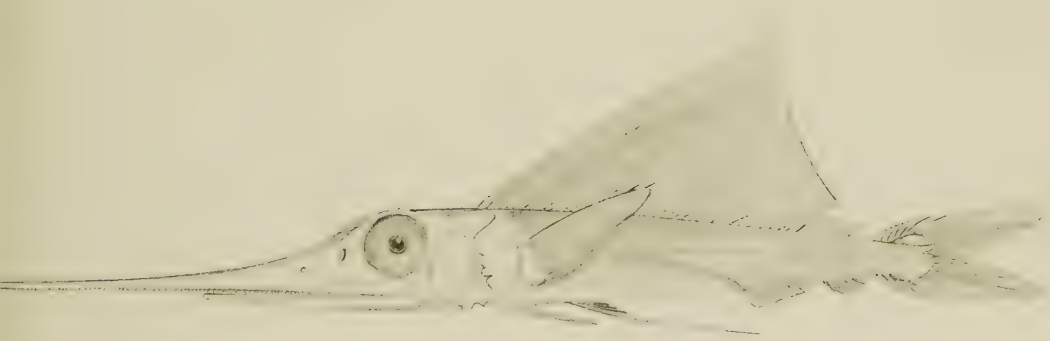


Fig. 2.

Lo stadio di mm. 29 (fig. 1) presenta: capo più lungo che alto, muso pro-
o a forma di becco col prolungamento mascellare quasi doppio della man-
ola, denti piccolissimi numerosi ravvicinati, appuntiti. L'occhio sferico,
nde è mm. 2,50 di diametro con lievissimo spazio sopraorbitario ed esteso
ello retro-orbitario, mm. 2,50 al cinto toracico. L'opercolo, largo, presenta
'angolo superiore una spina non molto sviluppata, ed a quello inferiore
a spina notevolmente lunga da oltrepassare, per un buon tratto, l'impianto
lle ventrali con alla base, lateralmente, qualche dentello. La porzione pre-
ale del tronco in mm. 6 corrisponde in lunghezza a quella del tronco cau-
le. Si ebbero gli esemplari dopo lunga fissazione in formalina che tolse loro
sparenza e pigmentazione naturale.

La pelle presenta come delle zigrinature e molti piccoli rilievi rifrangenti;
suo colorito è di un avorio opaco, uniforme. Le pinne sono formate ed
numero dei loro raggi è corrispondente a quello dell'adulto.

La prima dorsale grande, ha un'altezza crescente dall'avanti: ai primi
ggi, piuttosto corti, seguono altri molto alti, che decrescono gradualmente
'indietro: è estesa per una parte del dorso, e risulta composta da 43 raggi.

La seconda dorsale, breve e bassa, segue alla prima dopo breve spazio
mane ad una certa distanza dai raggi corti della caudale. Vi si contano
raggi.

La caudale, che, similmente alla prima dorsale, non ha ancora la forma
l'adulto si compone da 13 raggi tra corti e lunghi tanto nel lobo dorsale
e in quello ventrale.

Esistono *due anali*; hanno tutt'e due raggi non alti: la prima ha una
se quasi doppia della seconda che segue a breve intervallo della stessa ed
apposta e simmetrica alla seconda dorsale; rimane come questa ad una
ta distanza dalla caudale; lasciano contare, rispettivamente, raggi 15 e 9
i primi due più bassi.

Le pettorali, sono impiantate dietro l'inizio della prima dorsale e quasi
o stesso livello delle ventrali; sono caratteristiche per il maggiore sviluppo
lunghezza della porzione superiore rispetto alla rimanente. Vi si contano
-20 raggi.

Le ventrali sono ridotte ad un lungo raggio, che oltrepassa all'indietro
pertura anale: alla sua base si nota qualche piccolissimo raggio che scom-
re nello sviluppo.

Si contano 24 segmenti dei quali 12 preanali. Numero e disposizione si
etono perfettamente nell'adulto.

L'esemplare di mm. 54 (fig. 2) mostra, nel regolare accrescimento del
rpo alle varie sezioni, le sue caratteristiche proporzionalmente identiche a
elle dello stadio precedente, quali: conformazione generale del corpo, svi-
ppo della lama mascellare, disposizione delle pinne e relative formule e
mero di segmenti. Si ritiene, pertanto, superflua una nuova dettagliata
azione.

I due rarissimi stadi, qui descritti, mentre escludono per caratteri definiti e precisi ogni dubbio sulla loro pertinenza al *Tetrapturus belone*, confermano l'attribuzione a questa specie delle uova e larve da me prima segnalate (*l. c.*).

Riassunto

Si dànno notizie sulla biologia e pesca del *Tetrapturus belone* Raf. e si descrivono due rarissimi stadi giovanili, che confermano esatta l'attribuzione a tale interessante Teleosteo di uova e larve già segnalate dall'autore.

Résumé

On rapporte des renseignements sur la biologie et la peche du *Trtrapturus belone* Raf. et on décrit deux stades juvéniles trés rares qui confirment l'exactitude de l'attribution à cet intéressant téléostéen des oeufs et des larves dont l'auteur a déjà parlé.

Summary

Particulars are given on the biology and fisheries of *Tetrapturus belone* Raf. and a descriptionis given of two very rare and juvenil stages which confirm as exact the attention paid to these interesting Teleostean of eggs and larvae already designed by the author.

SPIEGAZIONE DELLE FIGURE

Fig. 1. — Stadio di *Tetrapturus belone* Raf. di mm. 29 rinvenuto sulla spiaggia di Faro (Messina).

Fig. 2. — Stadio di *Tetrapturus belone* Raf. di mm. 54.

NOTE ECOLOGICHE SUI BRIOZOI DEL LAGO SALMASTRO LITORANEO DI PATRIA (Napoli)

CESARE F. SACCHI

CENTRO DI STUDIO PER LA BIOLOGIA DEL C. N. R. PRESSO LA STAZIONE ZOOLOGICA DI NAPOLI

Dati sui Briozoi delle acque litoranee di bassa salinità non sono frequenti, per la fauna italiana; e sono particolarmente rari per gli stagni salmastri di tipo pontino, dei quali il Patria, e per caratteristiche idrologiche, e per origini ecologiche, può considerarsi il rappresentante più meridionale. Poichè il nostro ciclo di ricerche, ormai più che quadriennale, sul Patria stesso ci ha consentito di radunare notizie ecologiche sulle tre specie di Briozoi che fanno parte di quel contingente bentonico — contingente, come sempre, in ambienti salmastri, povero di specie, ma molto ricco di individui — riteniamo utile darne qui qualche cenno, tanto più che una delle specie trattate, *Victorella pavida*, è nuova per la fauna italiana, non certo perchè la si debba ritenere particolarmente rara, ma perchè le sue colonie debbono essere state confuse con altre specie di aspetto macroscopico più o meno simile (fig. 1).

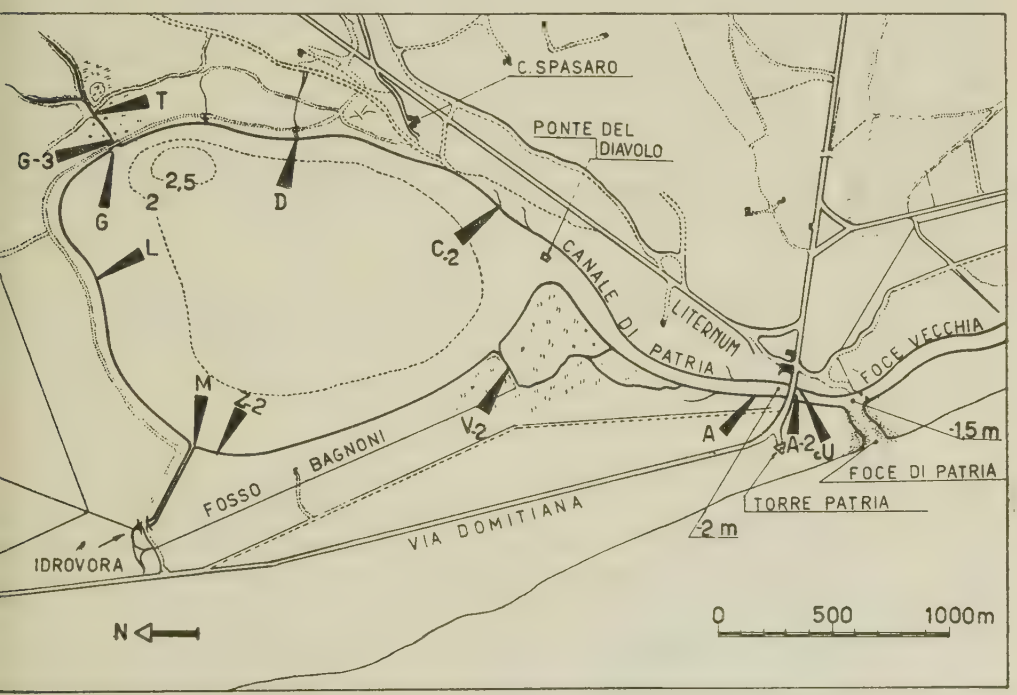


FIG. 1. — Schizzo schematico del lago di Patria, con indicazione delle principali stazioni citate nel testo.

Ringrazio il dott. J. S. Ryland, del Fisheries Laboratory di Lowestoff (Suffolk) che ha determinato o confermato parte del materiale; ed i due maggiori specialisti europei di membranipore, il prof. M. Prenant, direttore del Laboratorio di Anatomia Comparata della Sorbona, e la dott. A. Hastings, del Reparto Briozoi del British Museum. Con essi ho avuto scambi d'idee a voce e per iscritto, di cui non mi valgo che in parte, rinviando rispettivamente al volume sui Chilostomi e Stenostomi della « Faune de France », e ad una revisione generale delle membranipore, entrambi di prossima pubblicazione.

Le condizioni idrologiche generali del Patria, sia prima (fino al 1957) che dopo (dalla primavera 1958) il ristabilimento di una discreta vivificazione marina per dragaggio della foce, sabbiosa e di facile ostruzione, sono state delineate in altra sede (cfr. Sacchi, 1958 e 1959). Qui importa ricordare che, tra i risultati ecologici più vistosi di quelle opere idrauliche, che hanno consentito l'elevarsi della clorinità media del Patria da 5-5,5 a 6,5-7 p. p. m. (cioè, con approssimazione largamente indicativa, anche se chimicamente inesatta, da un 9-10 p. p. m. di salinità totale, ad un 12 p. p. m.) è da considerarsi la cacciata da tutta la parte centrosettentrionale del lago, che ne era in precedenza ingombra, di una vera prateria di *Potamogeton pectinatus* (L.) e d'un suo corteggio faunistico di origine limnobia e tollerante di basse salinità (larve di Odonati, specialmente Zigotteri; larve ed adulti di Coleotteri; Prosobranchi del gen. *Theodoxus* e Polmonati Basommatofori del gen. *Planorbis*; girini ed adulti di *Rana esculenta* L. e di *Bufo*; tinche e leucischi, ecc.). Nel contempo il lago veniva reinvaso da contingenti faunistici marini dotati di forte eurialinità, di cui, in parte, si ritrovavano tracce subfossili in terreni bonificati attorno al lago (*Cardium glaucum* Lam.; *Mytilus galloprovincialis* Lam.; *Balanus eburneus* Gould., ecc.). Del contingente tollerante di basse salinità, ricacciato solo in acque periferiche, faceva parte *Victorella pavida*. Di quello neoentrato dal mare, *Membranipora spiculata*. I due Briozoi hanno così avuto un ruolo molto vistoso nel riequilibrarsi della fauna del Patria su basi più stabili e più simili a quelle degli altri stagni salmastri del litorale campano-laziale.

Le specie di Briozoi trovate finora nel Patria sono le seguenti:

Ord. GIMNOLEMI.

Sottord. CTENOSTOMI:

Fam. *Victorellidae*.

Victorella pavida Saville Kent.

Fam. *Vesiculariidae*.

Bowerbankia gracilis Leidy.

Sottord. Chilostomi:

Fam. *Membraniporidae.*

Membranipora (= *Nitscheina?* = *Conopeum?*) *spiculata* (Canu) (1).

Victorella pavida. — Specie nuova per la fauna italiana, conosciuta rò da parecchie stazioni europee e da alcune località del bacino mediter-neo. Il Battstroem (1954) al quale rimandiamo per un elenco delle località nora note per la specie, sottolinea il legame di questa con acque salma-re: non si tratterebbe, cioè, per quanto è dato sapere, di una specie facente rte di contingenti che l'ambiente alolimnobio eredita dalle acque dolci, o ceve dal mare; ma di una specie, e pertanto, in Europa, di una famiglia, a maggior parte degli autori si accorda nel ritenere che le altre « specie » scritte, per la fauna europea, e nelle acque salmastre segnatamente la *V. uelleri* Kraepelin, non siano che forme di sviluppo, od ecomorfosi locali, *V. pavida*; in quanto alla specie marina *sibogae* Harmer, estranea alle nostre une, essa è oggi ascritta ad un diverso genere) che è perfettamente sal-astra. Di una sua origine acquidulcicola (affinità tra le famiglie *Victorellidae* *Paludicellidae*, quest'ultima ancora in prevalenza di acque dolci, ma con si di adattamento ad ambienti salmastri) *Victorella pavida* conserva, come ta il Battstroem, la preferenza per acque assai dissalate. Considerazione e si accorda perfettamente con il comportamento della specie nel Patria. el 1957, durante l'estate, essa invase, con le sue colonie d'aspetto muscoso di consistenza spugnosa, bruno-nerastre, quasi tutta la periferia del Patria; serendosi su cauli di *Phragmites communis* (L.), su stoloni della stessa, su nne appartenenti ad opere permanenti di pesca, su tubi di *Mercierella igmatica* Fauvel, su *Potamogeton pectinatus*, attorno ai cui fusti forma anicotti (cfr. tav. f. t., fig. *A*); più di rado su pulvini algosi di consi-enza sufficiente, feltrosa (specialmente su *Polysiphonia nigra*). Le colonie mparvero in acque salate dal 4 al 10 p. m., mai in acque dolci, nono-ante che la letteratura riferisca di qualche caso d'habitat acquidulcicolo robabilmente solo temporaneamente tale); sviluppo completo in luglio e orte tra la fine d'ottobre e l'inizio di novembre, quando le temperature del atria scendono sotto i 15° C, almeno per buona parte della giornata. Anche uesti dati rientrano nel quadro della termofilia notevole disegnato per *Vic-rella pavida* dal Battstroem. Gli zoeci vuoti non scompaiono che dopo qualche ttimana.

(1) Sulla nomenclatura specifica di questo, che è di gran lunga il Briozoo più frequente l Patria, vi è pure disaccordo, parendo a taluni che il nome proposto dal Canu (1928) bba essere invalidato, perchè adottato in precedenza dallo stesso autore per altro mate-le. Miss Hastings propende pel nome generico *Nitscheina*, pure del Canu; il prof. Prenant vicina la specie piuttosto al genere *Conopeum*, mentre il Borg, per l'intero gruppo, usava nomenclatura generica di *Electra*. Va comunque sottolineata l'incertezza fondamentale talune distinzioni, non soltanto specifiche, ma anche generiche, in gruppi ancora troppo alnoti nei loro limiti tassonomici, oltre che nella variabilità, geografica ed ecologica, dei ro componenti.

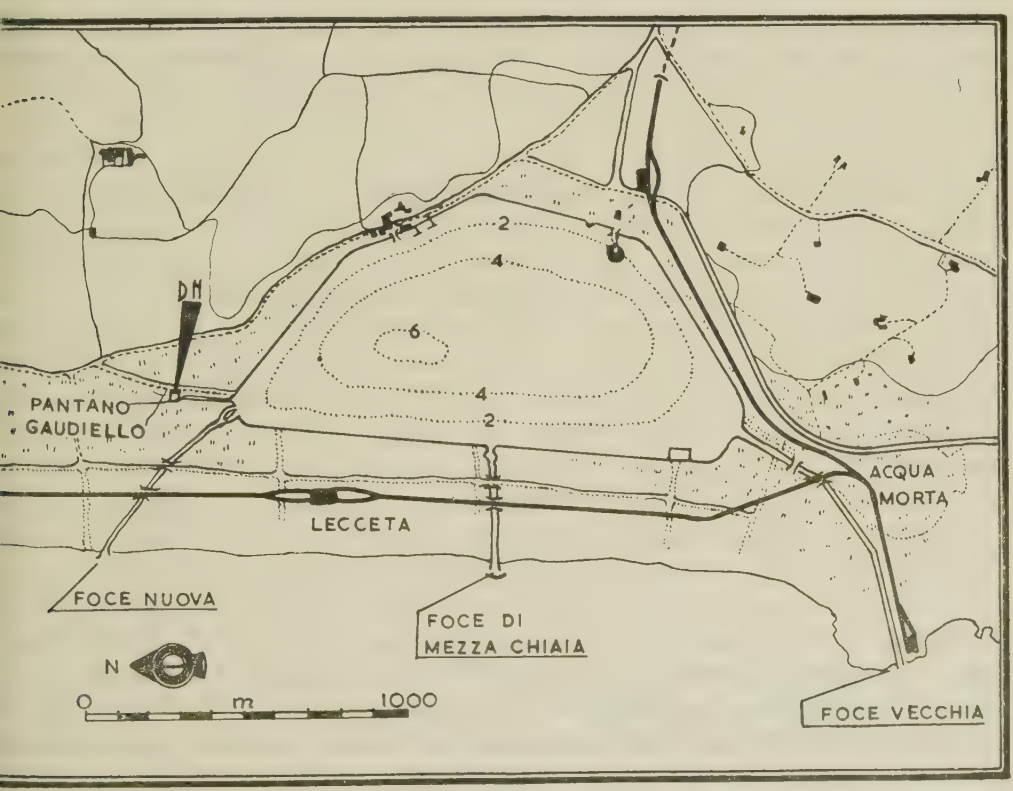
Nel 1958 l'area di *Victorella pavida* si ritrasse moltissimo, e tale è rimasta da allora. Seguendo marcatamente la ritirata di *Potamogeton pectinatum*, e quella del Decapodo Macruro *Palaemonetes antennarius* (H. Edw.), che è il comune gamberetto campano d'acqua dolce, e che, pur essendo fortemente eurialino, pure mostra preferenza per acque poco salate; ma non riuscendo a mantenere qualcuna delle localizzazioni periferiche che *Potamogeton* e *Palaemonetes* hanno tuttora, *Victorella* non fu più frequente che nel fossato, a corrente quasi permanente ed a debole salinità (4 p. p. m. di salinità totale per quasi tutto l'anno; temperature quasi mai inferiori ai 10° C nè superiori ai 30° C) che scorre dalla stazione idrovora posta a NO del lago verso la nostra stazione *M*. In quest'ultima stazione si mantenne bene sviluppata e frequente come nel 1957; meno frequente in alcune stazioni della sponda nordoccidentale del lago, un centinaio di metri a sud di *M*; piccole colonie anche presso la stazione *D*, che è lo sbocco al lago di un ruscello dolce proveniente dalla più importante sorgente della zona. Nel settore *M*, su *Potamogeton*, specie cui è particolarmente fedele perchè ne divide l'ecologia non acquidulcicola, ma non tollerante di salinità elevate; nel settore *D*, su pulvini di *Polysiphonia* ancorati alla banchina petrosa artificiale che argina tutto il contorno del Patria.

Una nuova stazione di *Victorella pavida* fu scoperta da noi nel giugno 1960 presso il Fusaro: non nel Fusaro stesso, che, per le sue salinità elevate (34-38 p. p. m. in quasi tutta la sua massa d'acqua) ha una briofauna di tipo marino litorale, ma in una vasca intercalata, per regolarne le acque, lungo il percorso del ruscello che sbocca all'angolo settentrionale del lago, drenando ciò che resta dell'antico pantano Gaudiello, oggi bonificato e coltivatissimo. Il ruscello è dolce, ed ospita una fauna francamente acquidulcicola; ma la vasca, paragonabile in certo senso ad alcuni ambienti periferici del Patria prima del dragaggio di foce, subisce forti sbalzi stagionali di temperatura e di salinità, in relazione alla portata del ruscello, naturalmente massima in stagione piovosa, ma che non viene mai meno; ed all'andamento del moto ondoso e delle maree del Fusaro, che, risalendone la corrente per quel centinaio circa di metri che separa la vasca dalla foce in lago del ruscello stesso, vi portano anche elementi faunistici alolimnobi d'origine marina. Nel giugno 1960 la vasca ospitava un discreto popolamento di *Palaemonetes antennarius*, e, sulle sue pareti, una formazione bene sviluppata di *Mercierella enigmatica*; inoltre, il più eurialino dei nostri Brachiuri, *Carcinus mediterraneus* Czern., mentre tra le mercierelle si notavano numerosi resti di giovani individui di *Balanus perforatus*, comunissimo nel Fusaro ma di eurialinità limitata (fig. 2.)

Giovani di *Mugil* sp. (il genere è ben rappresentato nel Fusaro) erano frequenti nella vasca, alla superficie della quale nuotavano, però, idrometre. La vasca aveva una clorinità p. m. dal 7,68 (stazione *DN*, presso l'origine dell'immissario, cui ci riferiamo in seguito) ed una temperatura di 33° C alla superficie. Il fondo era a solo mezzo metro, al massimo. Le colonie di *Victorella pavida* tappezzavano lo strato a mercierelle e balani delle sponde; inoltre alcune canne parzialmente ancorate alla riva. Esse apparivano molto numerose e già pienamente sviluppate, mentre nello stesso periodo erano ancora

ovanissime alla stazione *M* del Patria. Tale più rapido sviluppo si deve risimilmente alla calma ed alla temperatura ambiente più elevata, perchè debole corrente, l'esigua portata estiva dell'immissario, la profondità irriria, che anche d'inverno non raggiunge il metro, dànno a questa vasca na molto maggior continentalità termica in confronto ad *M*, posta in un nale profondo sempre almeno un metro, quasi sempre corrente, e di portta bastevole a determinare attraverso l'intero Patria un sensibile flusso verso mare. Qualche dato riferito nella tabella I può valere a scopo comparativo tra stazione *M* del Patria e la stazione *DN* del Fusaro, cioè tra le due migliori azioni a *Victorella pavida* attualmente note nel Napoletano. La validità mparativa è accresciuta, oltre che dalla vicinanza delle date di rilevamento che dalla considerazione che tutti i prelievi sono sempre stati compiuti nelle e più calde della giornata.

Nel rilevamento di fine ottobre le colonie di *Victorella*, ancora bene svippate, specialmente su canne e su resti di una Potamogetonacea vissuta ella vasca, forse una *Zannichellia*, erano però quasi soltanto composte da oci vuoti. Nessuna traccia se ne è ritrovata nel rilevamento del dicembre, entre la stazione *DN* era invasa da fauna acquidulcicola (per quanto scarsa, ata la stagione invernale) mantenutavisi nel febbraio 1961.



ig. 2. — Cartina del lago Fusaro e del Pantano Gaudiello. La stazione *DN* è caratterizzata dalla presenza di fiorenti colonie di *Victorella pavida* (cfr. tab. II).

Tabella I

Stazione DN (*Fusaro*)

DATA	t°C aria	t°C acqua (in superf.)	pH in loco	Cl °/₀₀	S °/₀₀
18– 6–1960	20	33	7,7	7,68	13,89
27–10–1960	21	19	7,7	0,80	1,47
3–12–1960	18	12,5	7,5	0,43	0,81
15– 2–1961	13	9	7,5	0,46	0,86
25– 3–1961	16	15	7,5	1,26	2,30

Verso la fine di marzo, tuttavia, in una primavera eccezionalmente precoce, arida e calda durante il giorno, mentre perdurava in *DN* una prevalenza netta di fauna d'acqua dolce, si notò ivi la comparsa, su canne fissate al fondo, di giovani (2-3 cm) *Mercierella*, e, fra queste, di colonie, ancora poco sviluppate (meno di un mm di altezza) di *Victorella pavida*, ancora del tutto assente, nello stesso periodo, dalla stazione *M* del Patria.

In laboratorio, colonie di *Victorella* dalla stazione *M* sono state tenute vive per parecchi giorni in acqua dolce circolante. Infruttuosi, per contro, i tentativi di ottenerne la sopravvivenza in circolazione di acqua di mare.

Tabella II

Stazione M (*Patria*)

DATA	t°C aria	t°C acqua (in superf.)	pH in loco	Cl °/₀₀	S °/₀₀
26– 6–1960	28	28	8,0	4,04	7,32
23–10–1960	19	19	7,2	1,78	3,24
8–12–1960	14	15,2	7,5	3,49	6,33
11– 2–1961	12,2	12	7,2	2,25	4,09
19– 3–1961	16	17	7,2	2,30	4,18

Bowerbankia gracilis. — Specie appartenente ad un genere tipicamente marino e costiero, ma, secondo Prenant e Bobin (1956), capace essa stessa di tollerare « acque salmastre fino al 15 per mille di sale », non può che avere una distribuzione molto localizzata nel Patria, mentre è stata di recente trovata abbondante nelle acque poco lontane di Porto d'Ischia. In effetti, essa si è rilevata per ora soltanto lungo il canale, terminante a fondo cieco, che è noto come « Foce Vecchia », e rappresenta l'antico canale di sbocco del

atria, fortemente deviato verso sud, in mezzo al cordone di dune litorali, me tutte le foci, naturali od artificiali, della zona — Volturno compreso — ndono ad esserlo, per l'esistenza di una sensibile corrente secondaria costiera oveniente da nord. Tale canale, che termina al Varcaturo, un paio di chi-metri a mezzogiorno della foce attuale, ha acque calme, molto protette lle dune e sottratte alla circolazione generale del Patria, ma non al giuoco lle maree che vi determinano stratificazioni termiche e saline, molto note-oli specialmente durante la stagione delle piogge. Le acque superficiali pos-no allora scendere temporaneamente fino al 2-4 p. p. m. di clorinità (sali-tà di 3-7 p. p. m.) e (febbraio 1961) a 3° C, ma in profondità si mantengono mpre clorinità di almeno 12-13 p. p. m. e si hanno temperature invernali almeno 10° C. Nella stagione secca, poi, anche le acque superficiali raggiun-no questi valori di clorinità, corrispondenti grosso modo a salinità superiori 20 p. p. m., e poichè le colonie complete di *Bowerbankia* non compaiono e d'estate, i limiti di tolleranza indicati dalla *Faune de France* non risultano mmeno raggiunti.

Le colonie di *Bowerbankia* formano esili manicotti grigiastri e fini, con raggio complessivamente mai superiore a qualche millimetro — mentre elle di *Victorella* superano di frequente il centimetro, e appaiono, almeno nostro materiale, sempre assai più dense, scure e grossolane — special-ente sui fusti di *Ruppia* e di *Potamogeton* radicati sul posto, fino ad una ofondità di qualche decimetro.

Membranipora spiculata. — Questo Briozoo, la cui confusa situazione menclaturale è stata sopra ricordata, è la specie dello zoobenthos fisso di an lunga più frequente nel Patria, insieme con *Mercierella enigmatica*. Gene-lmente considerata, fino a pochi anni orsono, come una forma del varia-lissimo ciclo di *M. crustulenta* (Pallas), e come tale riguardata nella revi-one, su basi anche zoogeografico-ecologiche, tracciatane dal Borg (1931) è ggi riconosciuta come specie distinta (1). Tra i caratteri specifici, oltre a diffe-nze nella larva *Cyphonautes* delle due specie (cfr. dati in corso di pubbli-zione di Hastings e collaboratori), è sovrattutto da porsi in primo piano evidente differenza della regione opercolare. La forma, la dimensione, la nsistenza dell'opercolo, pur attraverso una considerevole variabilità geo-afica e forse anche ecologica, si conservano bene individuate nell'una e nel-ltra specie: l'opercolo è piccolo, poco ispessito, scarsamente impregnato di lcare in *spiculata*; è vistosamente più grosso, spesso, bene calcificato in *ustulenta* s.s. Altri caratteri, per quanto meno costanti e più mutevoli, sono spessore piuttosto uniforme dei contorni del cistide in *spiculata*; il mar-ne prossimale non ne appare sensibilmente più ingrossato, e manca ad esso spina caratteristicamente presente in *crustulenta*, mentre abbastanza di equente (cfr. tav. f. t., fig. *E*) compaiono due spine laterali all'opercolo.

(1) In particolare il materiale del Patria è stato riconosciuto appartenente alla specie . *spiculata* tanto da Miss Hastings che dal prof. Prenant.

Va tuttavia rilevato che i caratteri di spicolazione, come già il Borg, che pure, si è detto, considerò *spiculata* come una razza geografica della specie *crustulenta*, aveva sottolineato, sono i più variabili. Anche nel materiale del Patria le spine laterali mancano molto spesso; a sua volta *crustulenta* mostra frequente assenza della spina prossimale, e nemmeno i caratteri dello spessore della parete (rilevabili sovente solo attraverso statistiche portanti su grandi serie di materiale) possono considerarsi come veramente buoni, al pari d'altri, relativi all'intero cistide, e pure riferiti dal Borg (*cit.*). Oltre alla larva, l'opercolo decide però nettamente l'attribuzione all'una od all'altra specie.

Ancora imprecisa la ripartizione geografica di *spiculata*; per la quale si usa qui uno dei nomi specifici proposti nel 1928 dal Canu, autore propenso ad una sistematica molto divisionistica, per materiale di un fiumiciattolo tunisino, l'ued Bezirk (qualcuna delle « specie » del gruppo del Canu proverrebbero addirittura, non da acqua salmastra di foce, ma da acqua completamente dolce: crediamo senz'altro che si tratti di acqua al momento dolce, ma destinata ad arricchirsi di sale nel corso del ciclo stagionale, e probabilmente anche giornaliero). Poichè in Mediterraneo, per quel che è possibile saperne per ora, la *M. crustulenta* non vive, le « specie » maghrebine del Canu entrano naturalmente in *M. spiculata*, come sinonimi. *M. spiculata* ha invece una ripartizione anche extramediterranea, che sembra peraltro circoscritta ad acque, nel complesso, men salate di quelle che *M. crustulenta* arriva a tollerare (essa è specie abbastanza comune sulle coste del mare del Nord). In acque litoranee di bassa salinità, lungo le coste inglesi e, probabilmente, anche altrove, le due specie possono talvolta abitare l'una accanto all'altra.

Nel Patria, come si è accennato, *M. spiculata* ha fatto parte di quel contingente che il dragaggio della foce ha reintrodotto nel lago, in parte per accresciuta clorinità media; in parte per maggiore stabilizzazione delle biocenosi, conseguente ad una vivificazione marina più regolare; in parte per rimozione di un ostacolo meccanico alla larga penetrazione del plancton primaverile marino. Se di essa non è fatto cenno nella mia nota (Sacchi, 1959) che puntualizza la situazione del macrobenthos alla fine dell'inverno 1958-1959, è soltanto perchè le prime colonie di *Membranipora spiculata* (tipiche colonie crostose, subcircolari, giovani, non misuranti più di cm 1-2 di diametro) furono rilevate, sulla faccia inferiore di grosse pietre nella stazione *G*, solo nella seconda metà dell'aprile 1959. Concomitante a quell'insediamento, altri se ne erano certo verificati altrove, perchè due mesi dopo il primo reperto il Briozoo mostrava uno sviluppo estremamente rigoglioso lungo quasi tutto il canale di foce, e lungo le coste più meridionali del Patria, dove ricopriva quasi per intero pietre (specialmente sulla faccia basale); cozze; formazioni a mercierella, ecc.; e, men rigoglioso e meno denso, aveva raggiunto anche la costa settentrionale (zona L). Non vi è, invece, alcuna traccia di *M. s.* nei giacimenti subfossili del lago precedenti la bonifica, nè tra il materiale tratto durante la bonifica stessa dal fondo del Patria (cfr. Sacchi, 1961) per argini e massicciate stradali; mentre, in condizioni analoghe, è facile, nonostante il debole ispessimento e la povertà relativa di calcare dei cistidi, tro-

ne di subfossili altrove, per esempio lungo stagni salsi francesi (cfr. reperti sonali all'Etang de l'Ayrolle, in Linguadoca, nel settembre 1959). D'altra te la distribuzione di questa specie alolimnobia — come di tante altre, li stessi ambienti — è per certo delle più capricciose, potendo dar luogo, ne si rileva dalla letteratura, e da numerose comunicazioni personali avute proposito, ad autentiche improvvise esplosioni di popolamento. L'assenza qualsiasi cenno della specie in recenti memorie sui laghi pontini (cfr. p. es. unelli e Cannicci, 1944, per Sabaudia; Sommani, 1954, pel Lago Lungo; rrero, 1956, per Fogliano; ecc.) come pure il mancato ritrovamento, finora neno, nel Fusaro, anche nelle stazioni periferiche a bassa salinità di cui è detto per *Victorella pavida*, possono costituire altre conferme di un'area tributiva molto discontinua, nello spazio e nel tempo.

M. s. vive oggi nel Patria entro un'estesa gamma di clorinità: la si trova stazioni con clorinità quasi sempre attorno al 2-3 p. p. m., come in stazioni 18-20 p. p. m. Essa divide così l'ecologia generale di *Bowerbankia gracilis* foce vecchia (spesso sulle stesse piante di Potamogetonacee) e quella di *torella pavida* nella stazione *Z*-2, e presso *D*. Manca tuttavia, oltre che o sbocco *D* propriamente detto, ove l'acqua è quasi sempre dolce (a meno mareggiate da scirocco, o di eccezionali livelli del lago, d'altronde tranri, perchè corrispondenti a periodi di foce chiusa, e quasi sempre essi stessi comitanti alle sciroccate), anche dal canale dell'idrovora, pur trovandosi iati del suo sbocco in Patria. Tale ultima assenza, poichè i valori di cloità media dell'acqua pompata dall'idrovora sono, come si è visto per *Victella*, sempre relativamente elevati, e tali comunque da essere compresi nei iti di eurialinità di *Membranipora spiculata*, è certamente da porsi in relane con la corrente, quasi sempre forte, del canale stesso, che le larve prodienti dal Patria non riescono a rimontare: nel canale, così, non si sono mmeno mai potute fissare larve di balani, anche quando, al massimo della espansione (tardo autunno 1958) *Balanus eburneus* si era insediato in no sbocco *D*, sopravvivendovi con giovani individui fin alla primavera 59, e dunque tollerando, per parecchi mesi, clorinità bassissime, inferiori neralmente all'1 p. p. m. D'altra parte, mentre, come si vedrà, sa competere con successo con gli altri organismi dello zoobenthos fisso nella conista di substrati immobili, *M. s.* si rivela incapace di conquistare substrati bili: il carapace di *Carcinus mediterraneus*, specialmente nel canale di foce, li frequente coperto da *Mercierella enigmatica* e da *Balanus eburneus* come, mare, lo è da altri Serpulidi e da altri balani, ma non vi si è mai riscontata la più piccola colonia di *Membranipora spiculata*.

I substrati fissi su cui *M. s.* vive nel Patria sono molteplici: rizomi, fusti, ezionalmente foglie temporaneamente sommerse di *Phragmites communis*; li, foglie, peduncoli, gemme e frutti di *Potamogeton pectinatus* e di *Ruppia ritima* L. (specie, quest'ultima, che ha spodestato l'altra dalla maggior rte del lago durante la rivoluzione ecologica provocata dal dragaggio del 58); talli di *Ulva*, *Enteromorpha*, *Chaetomorpha* (i sottili filamenti di *Chaetorpha* vengono completamente avviluppati dalle colonie del briozoo, che

formano attorno ad essi sorta di fragili tubicini calcarei); più di rado fila menti di alghe rosa: *Polysiphonia*, *Ceramium* ... Insieme con substrati inor ganici (pietre, calcestruzzo, cemento, ecc.) le colonie di *M. s.* invadono po substrati vegetali morti: pali, tronchi, pezzi di legno immersi; canne di lavo rieri o di sostegno di reti; le reti stesse, se siano abbastanza fitte (anche mer cierelle e balani, d'altronde, vi si fissano); e fogli di politene, come quelli por tati dalle onde in fondo alla vecchia foce (estate 1959), parzialmente ancoratis nel fango delle rive, e completamente coperti da colonie laminari del briozoo Interi rami, con foglie e gemme (cfr. tav. f. t., fig. *F*) possono esserne tap pezzati, anche in più strati, tenendosi conto del fatto che la stazione ov il ramo raccolto era stato trasportato (stazione *cU*) è riccamente algosa, per tanto ricchissima di ossigeno (fin oltre il 200 % di saturazione) durante l ore calde e luminose, e costituisce così un ambiente ottimale per lo zooben thos immobile. Tra i substrati animali viventi, conchiglie di cozze (cfr. tav f. t., fig. *G*); pezzi calcarei dei balani; tubi di mercierella sono quasi ovunqu nel lago ricoperti da *M. s.*

Nella competizione che si scatena tra il benthos fisso per la conquist dello spazio vitale, durante l'estate e l'autunno, *M. s.* sembra essere tra l specie più vigorose, ed è per certo tra quelle dotate di sviluppo più rapid e rigoglioso. Le efimere acque alte della stagione delle piogge (normalmente ottobre-gennaio) lasciano, ritirandosi alla fine dell'inverno, lungo l'intera banchina artificiale che circonda il lago, la testimonianza più vistosa dei lor più elevati livelli in talli di *Enteromorpha intestinalis* ed in colonie morte d *Membranipora*, il cui stato di sviluppo può dare un ottimo indizio del tempo di persistenza delle acque ai livelli stessi. Del pari, stazioni periferiche men vivificate, quali la piccola palude residua di *V*-2, od il fossato di *T*, mostran spesso, qui su vecchi pali, là su fusti o, come in un pantano temporaneo a sud della vecchia foce, su foglie di frammiti, colonie di pochi millimetri o d qualche centimetro di diametro, a livelli raggiunti solo nelle piene autunnali in queste stazioni, d'altronde, la cui clorinità è variabilissima, perchè dipend dall'azione antagonistica dell'afflusso d'acqua da lago, e di vicine sorgent dolci, si constatano di frequente successive ondate di popolamento di *M. s.* nessuna delle quali persiste più di qualche mese, sia per il variare di livello sia per brusche dolcificazioni. Dove, peraltro, le condizioni permangono buone e dove i substrati rimangono in perenne immersione (*M. s.* non sembra capace tuttavia, di superare di molto il mezzo metro di profondità) la competizione tra *Enteromorpha intestinalis*, *Mercierella enigmatica* e *M. spiculata*, le tre specie del macrobenthos dallo sviluppo più veloce in senso assoluto, raggiunge spesso risultati pittoreschi. Le giovani plantule di *Enteromorpha*, fino alla lunghezza di alcuni millimetri (cfr. tav. f. t., fig. *B* ed *F*) vengono com pletamente avviluppate dal reticolo di *Membranipora*; lo stesso può talora (tav. f. t., fig. *C*) accadere a giovani tubi di *Mercierella*, lunghi fino ad un centimetro o poco più; ma generalmente essi riescono a sopravvivere, mante nendo sgombro il contorno del peristoma. Se, per contro, giovani colonie di *Membranipora* si originano su talli adulti di *Enteromorpha*, esse vi seguono

tipico andamento subcircolare, formandovi come placche più o meno iso-
e: lo stesso su *Ulva*. Attorno alle *Mercierella* adulte, formano manicotti,
e seguono generalmente, nella loro proliferazione, l'allungarsi del tubo del
rpulide, o saldano insieme più tubi, tanto che i ciuffi di filamenti bran-
iali delle mercierelle sembrano uscire direttamente da un viluppo retico-
o dei Briozoi. Lo stesso per le cozze, libere solo alla base e lungo i mar-
ni valvari (fig. *G*) e per il tratto apicale di balani adulti o subadulti. In
anto ai più giovani balani essi non entrano ad armi pari nella competi-
one di cui si è detto: dopo aver invaso tutto il lago nell'estate del 1958
certamente anche profittando dell'assenza di membranipora — dando con
mercierelle, preesistenti al miglioramento della foce, formazioni anche plu-
stratificate — ma senza affermarsi in foce vecchia, forse per carenza in essa
substrati duri — i *Balanus eburneus* si sono ridotti ad un livello bene
finito, più basso dei massimi invernali (è raro trovare qualche piccolo balano
le enteromorfe e le membranipore scoperte, come si è notato, a prima-
ra; più frequente il trovarvi brevi tubi di mercierelle giovani) evitando
stazioni inferiori per troppa parte dell'anno al 3-4 p. p. m. di clorinità. In
ce, invece, permangono numerosissimi, dando luogo con le mercierelle e
membranipore a tutte le possibili combinazioni di stratificazione, in cui
caso, oltre alla rapidità di sviluppo, sembra sovrattutto decidere le posi-
oni relative, mentre tutte queste specie non sono veramente frequenti che
i settanta centimetri di profondità (livello estivo) alla superficie. Da notare
ne in foce il giuoco delle maree è sensibilissimo, e che sul fondo si mantiene
uasi sempre una clorinità di 14-19 p. p. m.

Infine, è possibile rilevare (cfr. tav. f. t., fig. *F*) una sovrapposizione di
iù colonie, laminari o con andamento reso irregolare dal ricoprimento di altri
rganismi, con la formazione di più strati, in cui l'inferiore, se completa-
ente ricoperto, è, naturalmente, morto. La frequenza e la ripetizione nel
empo della fissazione dei *Cyphonautes*, probabilmente attratti dalle colonie
reesistenti, può esserne così testimoniata.

Tutte le colonie sin qui descritte sono tipicamente laminari, e possono
mulare un andamento cespuglioso, laminare, più o meno ramificato, solo
e ricoprono altri organismi (tav. f. t.) o se i margini in accrescimento di due
olonie contigue si incontrano, si accavallano, tendono a sovrapporsi ed a
rescere l'uno contro l'altro. Vere colonie cespugliose, peraltro, si sono tro-
ate, specialmente su frammiti, in *G*-3; su canne piantate nel fondo, al largo
i *G* e di *L*; poi anche in foce ed altrove. Tali colonie cespugliose (cfr. tav.
t., fig. *D* ed *E*) sono spesso colorate in un roseo carnicino delicato, anzichè
ssere di tinta bianco-grigiastra come quasi sempre le colonie tipiche. Il signi-
cato fisiologico di tali reperti, osservati anche in *crustulenta* da altri autori,
incerto; ma non è improbabile, essendosi i reperti verificati in primavera,
he essi siano in relazione con la fase di più intensa attività sessuale.

Le osservazioni sul ciclo vitale di *Membranipora crustulenta* nel Baltico,
ccolte dal Borg (1947) valgono abbastanza bene anche per *M. spiculata*
el Patria, pur con una netta anticipazione dell'attività sessuale e con un

prolungamento per tutto l'autunno della proliferazione delle colonie. Si noterà d'altronde, che i biotopi del Borg, per la loro bassa salinità, sono bene paragonabili con certi nostri stagni litorali, tra cui appunto il Patria. Il Borg segnalando pure la specie su *Phragmites* e su substrati vari, nega che la luce abbia influenza nell'insediamento, e spiega la preferenza per la faccia inferiore delle pietre come dovuta a ricerca di maggior protezione, e, specialmente, a fuga davanti al ghiaccio. Non è simile, evidentemente, il meccanismo che guida il materiale del Patria, dove solo eccezionalmente, e solo in acque periferiche di bassissima salinità e praticamente stagnanti (gennaio 1961, p. es.) si hanno efimere gelate superficiali. Ma è probabile che la localizzazione sulla faccia inferiore del petrame corrisponde ad una tendenza ad evitare le acque superficiali, nelle quali l'escursione termica può arrivare nell'anno ai 30° C, o addirittura superarli (foce vecchia) e che facilmente ondeggiano, data la laminarità del lago (cfr. fig. 1) anche per deboli venti. Il Borg trova in maggio-giugno le colonie in piena attività, di proliferazione e di riproduzione sessuale; da noi tale periodo può corrispondere almeno al marzo, o addirittura iniziare a febbraio (che è il primo mese della « primavera » nei nostri mari) anzichè in aprile, come nel materiale del Borg. Questi sottolinea che la riproduzione sessuale (proliferazione delle colonie) raggiunge il suo massimo in luglio. Per noi, in luglio, mese in cui il Patria conosce temperature sui 30° C, e concentrazioni enormi di sostanza organica, legate alla decomposizione della maggior parte della biomassa vegetale (il che causa anche ecatombi dello zoobenthos fisso o poco mobile: nei Lamellibranchi, p. es.) si entra in piena stasi estiva; mentre attiva proliferazione si riscontra tra l'aprile e la metà di giugno; si assiste poi ad una ripresa a fine settembre-ottobre-novembre, mesi in cui, nel Baltico, si va ormai verso il riposo invernale, con forte riduzione dell'attività proliferativa, fino alla sospensione.

Verso la fine dell'estate si manifesta infatti nel Patria (settembre, forse anche parte dell'ottobre) una ripresa d'attività sessuale, ignota « probabilmente per condizioni climatiche sfavorevoli » (Borg, *cit.*) nel Baltico settentrionale, ma segnalata per le coste meridionali di quel mare; le piccole colonie estivo-autunnali, derivate verisimilmente, secondo il Borg, da larve dell'attività sessuale primaverile, sono molto frequenti da noi; ma quelle francamente invernali (novembre-febbraio) di cui si è detto a proposito del rapido popolamento di livelli temporaneamente coperti dalle acque alte della stagione piovosa, sono assai più probabilmente originate, nel Patria, dalle larve del periodo riproduttivo autunnale.

Membranipora spiculata può sovente allevarsi, ed anche continuare la propria attività proliferativa, se posta in acqua di mare circolante. Non tutti i tentativi da noi compiuti sono peraltro riusciti: oltre che la stagione di raccolta delle colonie, è probabile che la salinità originaria abbia molta importanza. Per quanto molto eurialina, insomma, *M. s.* non sembra (come, d'altronde, *Mercierella enigmatica*, alla quale, ripetiamo, essa è sempre associata nel Patria) capace di tollerare sempre sbalzi troppo forti e bruschi di salinità, a differenza del contingente più eurialino del macrobenthos mo-

ile: *Sphaeroma hookeri*, *Gammarus aequicauda*, *Corophium volutator*, *Hydrobia entrosa*. Il Briozoo è poi incapace di sopravvivere in circolazione d'acqua olce. Fatto spiegabile con la stessa origine filogenetica della specie, che è uno ei ben pochi Chilostomi europei adattatisi ad acque anche molto dissalate: da otarsi che *M. crustulenta* fu l'ultimo Briozoo alolimnobio, ed una delle ultime pecie di origine marina, sopravvissute nello Zuiderzee, divenuto Ijsselmeer, opo la chiusura delle dighe (cfr. Fauna en Flora van de Zuiderzee, 1954); na che essa, a differenza p. es. di *Hydrobia stagnalis*, affine appunto alla nostra *. ventrosa*, è stata incapace di tollerarne la dolcificazione ormai praticamente ompleta; come, d'altronde, la stessa *Victorella pavida*.

In conclusione, pur nel numero tanto ridotto delle specie presenti, anche ei Briozoi il Patria presenta le caratteristiche faunistiche dei tipici ambienti lmastri: accanto ad una specie eurialina di origine nettamente marina (*Bo-erbankia gracilis*), una ne possiede filogeneticamente marina, ma prevalen-mente salmastra nei nostri paesi (*Membranipora spiculata*); una filogene-camente acquidulcicola, pure alolimnobia, ma di minor tolleranza ad ele-te clorinità (*Victorella pavida*); in queste presenze, e nelle loro vicissitudini insediamento, si leggono quei caratteri di transitorietà, di instabilità, di certezza ecologica che appunto del mezzo salmastro costituiscono l'impronta eculiare, ed il fattore prevalente di selezione ambientale.

Riassunto

L'Autore traccia un quadro ecologico delle tre specie di Briozoi del lago lmastro litoraneo di Patria: *Victorella pavida* (nuova per la fauna italiana) he è specie di basse clorinità, e di cui viene pure analizzata l'ecologia in n'altra stazione, a nord del Fusaro; *Bowerbankia gracilis*, specie marina calizzata solo in una zona a clorinità elevata; *Membranipora spiculata* (= *cru-ulenta* pars) che, in Mediterraneo, è invece tipicamente salmastra, e che è pecie d'elevato potere invasivo e molto euriecia.

Résumé

L'Auteur trace un tableau écologique pour les trois espèces de Bryo-aires jusqu'à présent trouvées dans l'étang saumâtre de Patria, à l'ouest Naples. *Victorella pavida* est une espèce limitée à des eaux de faible chlo-nité, dont une autre station, au nord de l'étang du Fusaro, est analysée par mparaison. Il s'agit d'une espèce nouvelle pour la faune italienne. *Bower-nkia gracilis*, espèce marine, est limitée à une zone aux fortes chlorinités tivales. *Membranipora spiculata* (= *crustulenta* p.p.) est enfin une espèce ui, en Méditirranée, ne paraît habiter que des eaux saumâtres: elle est douée une très haute invasivité ed d'une forte euryoecie.

Summary

The Author gives an ecological picture of the three species of Polyzoa inhabiting the brackish waters of lago di Patria (prov. of Naples). *Victorella pavida* (new for the Italian fauna) is a species requiring a low average chlorinity. It was also found in a brackish pool North of lago Fusaro. *Bowerbankia gracilis* is a marine littoral species, only inhabiting a small zone of Patria, with a high summer chlorinity. *Membranipora spiculata* (= *crustulenta* p.p.) on the contrary, is only known, in the Mediterranean region, from brackish environments. It is a very eurioecious species, with a strong invasion power.

BIBLIOGRAFIA CITATA

Battstroem, H. (1954): *Notes on* Victorella pavida *Kent.* « Acta Univ. Lundensis », (2) 50 (9), 1-29.

Borg, F. (1931): *On some species of* Membranipora. « Ark. f. Zool. », 2 (4), 1-35.

Borg, F. (1947): *Zur Kenntnis der Oekologie und des Lebenszyklus von* Electra crustulenta (Bryozoa Chilostomata). « Zool. Bid. », 25, 344-377.

Brunelli, G. & Cannicci, G. (1944): *Le caratteristiche biologiche del lago di Sabaudia.* « Atti Acc. d'Italia, Cl. Scienze Fis. », 14, 663-731.

Canu, F. (1928): *Trois nouveaux Bryozoaires d'eau douce.* « Bull. Soc. Hist. Nat. Afr. du Nord », 19, 262-264.

Fauna und Flora van de Zuiderzee (thans Ijsselmeer), 1954 (pp. 156-157; 237-238; 330; tab. V)

Ferrero, L. (1956): *Ricerche quantitative sulla fauna bentonica del lago di Fogliano.* « Boll. Pesca Piscic. Idrobiol. », 32, 187-224.

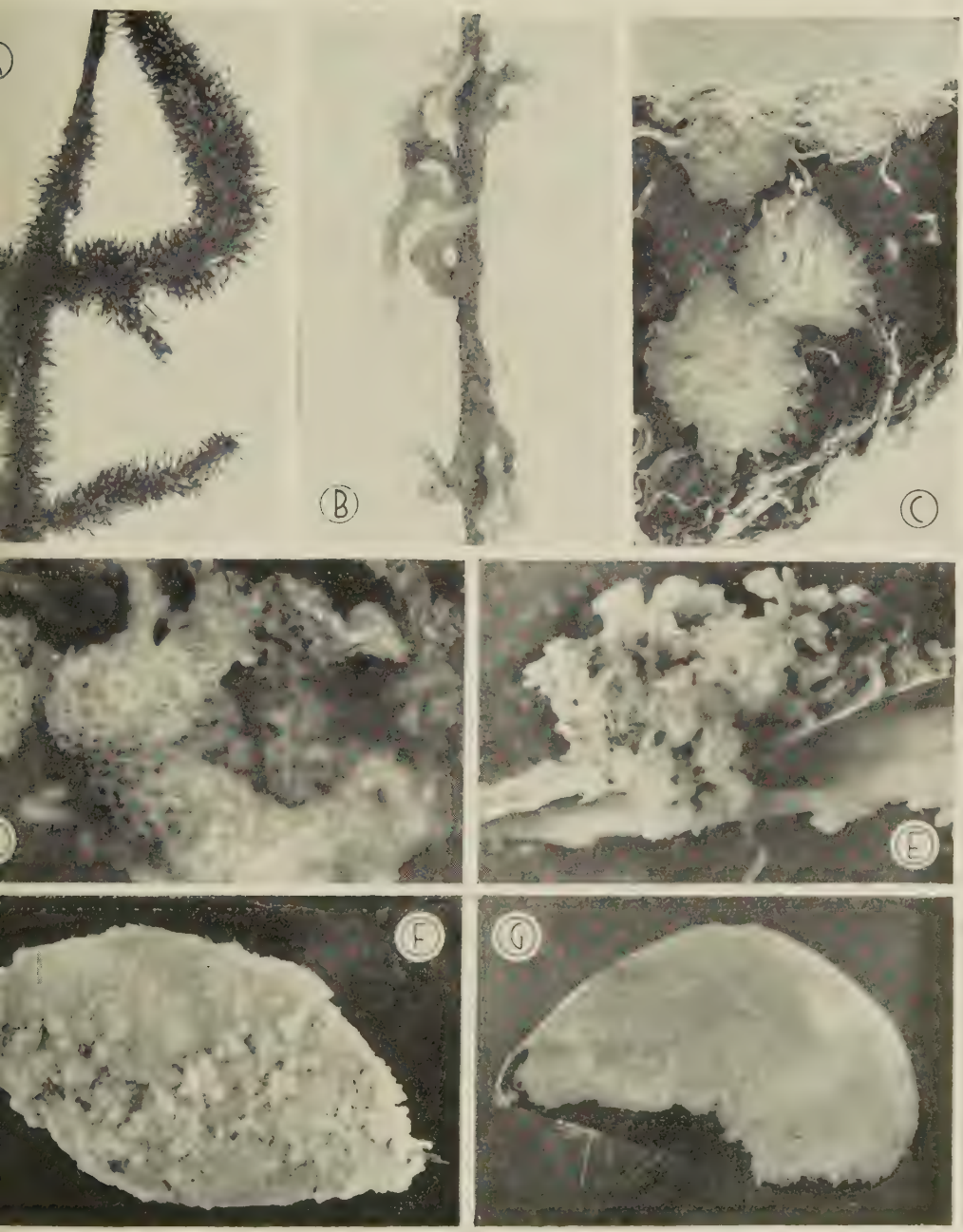
Prenant, M. & Bobin, G. (1956): *Bryozoaires,* 1. « Faune de France », 60.

Sacchi, C. F. (1958): *Notizie ecologiche sul lago litoraneo di Patria.* « Proc. XVth Intern. Congr. Zool. », London, 262-263.

Sacchi, C. F. (1959): *Vivificazione marina permanente e mutamenti ambientali nel lago di Patria.* « Natura », 50, 43-55.

Sacchi, C. F. (1961): *L'évolution récente du milieu dans l'étang saumâtre dit Lago di Patria (Naples) analysée par sa macrofaune invertébrée.* Sous presse en « Vie & milieu ».

Sommani, E. (1954): *Il Lago Lungo. Caratteristiche idrobiologiche di un ambiente salmastro.* « Boll. Pesca Piscic. Idrobiol. », 30, 30-53.


B
C
E
F
G

SPIEGAZIONI DELLE FIGURE DELLA TAVOLA

BRIOZOI DEL LAGO DI PATRIA

g. *A*. — Colonie di *Victorella pavida* Saville Kent, su *Potamogeton pectinatus* L. Stazione *M*, luglio 1959.

g. *B*. — Colonie di *Membranipora spiculata* (Canu), su *Potamogeton pectinatus* L. Stazione *V*-2, febbraio 1961. Le colonie sono di tipo laminare, ma ricoprono plantule di *Enteromorpha intestinalis* (L.) assumendo così aspetto parzialmente cespuglioso e ramificato.

g. *C*. — Tipiche colonie laminari (giovani) su superficie inferiore di pietra. Stazione *G*, primavera 1960. Si distinguono bene le 5-7 serie periferiche di zoeci del nuovo anno, con pareti meno ispessite, in confronto alla zona centrale della colonia, che è più opaca e più calcificata, della stagione precedente.

g. *D*. — Particolare della fig. *E*. In primo piano sono visibili i caratteri morfologici principali che distinguono la specie *spiculata*: l'opercolo piccolo, sottile, poco calcareo e (carattere meno costante, e soggetto a grande variabilità intraspecifica) le spicole.

g. *E*. — Colonie « cespugliose » di *M. s.* su *Phragmites communis* (L.), dalla stazione *G*-3, aprile 1960. Colore originario: roseo-carnicino pallido.

g. *F*. — Colonie crostose tipiche, ma sovrapposte in parte l'una all'altra, e ricoprenti giovani piante di *Enteromorpha intestinalis* e giovani tubi di *Mercierella enigmatica* Fauvel, su foglia caduta in acqua di *Quercus ilex* L. Un'intero ramo di leccio è stato « intonacato » così da numerose colonie del Briozoo. Stazione *cU*, febbraio 1960.

g. *G*. — Colonie tipiche su *Mytilus galloprovincialis* Lam. Stazione *A*-2, autunno 1959. Praticamente l'intera superficie delle valve, ad eccezione evidentemente dei margini e della parte basale, aderente col bisso ad una formazione a *Mercierella*, è coperta da *Membranipora*.

In *B* ed in *G* sono molto evidenti i margini della colonia, che prolifera senza formare, come invece in *Membranipora membranacea* (L.), un orlo opaco di accrescimento. L'assenza di tale cercine è una delle caratteristiche morfologiche del gruppo di *M. crustulenta* (Pallas). L'eventuale presenza di ispessimenti ai margini della colonia può essere il risultato di irregolarità del substrato o dell'incontro di due colonie entrambe in espansione, con parziale sovrapposizione dei margini; caso comune, specialmente su ampie superfici rocciose, anche nel Patria.

IL *SALMO MARMORATUS* CUV.: SUA ORIGINE E DISTRIBUZIONE NELL'ITALIA SETTENTRIONALE

ERNESTO SOMMANI

LABORATORIO CENTRALE D'IDROBIOLOGIA – ROMA

Tra i vari componenti l'ittiofauna delle acque interne d'Italia, il *Salmo marmoratus* Cuv. riveste un interesse particolare sotto molteplici aspetti. Per ognuno di tali aspetti occorrerebbe una trattazione in particolare in quanto sono assai numerosi e vari i fattori che hanno contribuito alla differenziazione di tale entità sistematica ed a determinarne la sua attuale diffusione, limitata a parte della Val Padana, al Veneto e ad alcuni corsi d'acqua della Dalmazia.

Per quanto riguarda il valore sistematico della trota marmorata, l'argomento fu studiato da differenti punti di vista da alcuni AA., tra il 1935 ed il 1940.

Nel 1935-36 Delpino e Gridelli si occuparono per i primi della sistematica di questa specie, prendendo in considerazione i principali caratteri morfologici ed anatomici di essa. Le conclusioni a cui questi AA. giunsero in seguito alle loro osservazioni furono identiche: la trota marmorata è una entità sistematica nettamente distinta dal *S. trutta fario*.

Nel 1939-40 Pomini riprese questo argomento prendendo però in considerazione gli stadi larvali e post-larvali delle trote italiane e riconoscendo nel *S. marmoratus* caratteristiche tali da considerarlo come specie a sè rispetto alle altre congeneri esistenti nell'Italia settentrionale (*S. lacustris*, *S. carpio*, *S. trutta fario*).

A completamento delle argomentazioni ora ricordate, si riassumono qui alcune osservazioni di carattere ecologico, in parte già trattate precedentemente (1948), dalle quali si possono trarre conclusioni analoghe a quelle dei già citati AA.

Il *S. trutta fario* abbandona le acque in cui è frequente il *S. marmoratus* per cui, mentre questa ultima specie è generalmente presente nei corsi d'acqua scorrenti nelle vallate principali ed in alcuni dei maggiori affluenti laterali, la *fario* si trova distribuita di preferenza nei minori affluenti ed in genere in tutti i torrenti a più alta quota e di modesta portata.

Da vari decenni vengono effettuate annualmente, nella maggior parte dei corsi d'acqua alpini, immissioni di avannotti di trota fario. Ciò ha dato luogo alla presenza di numerosi ibridi, con evidenti caratteri intermedi tra le due specie. Si è però osservato più volte che, qualora le immissioni di avannotti

i trota fario vengano sospese per qualche anno, la sola trota marmorata mane presente nel tratto del corso d'acqua da essa normalmente abitato.

Infine la particolare pigmentazione del *S. marmoratus* non è da attriuire all'ambiente: la distribuzione di questa specie comprende corsi d'acqua ra loro diversissimi, le cui caratteristiche influiscono soltanto sulla intensità tonalità della pigmentazione, ma non sulla sua tipica distribuzione ed aspetto. noltre la trota marmorata, anche se cresciuta e tenuta per molti anni nelle esse vasche di allevamento occupate da trote fario ed iridee, mantiene integra sua caratteristica colorazione (vedi tavola).

Dall'insieme dei fatti ora esposti risulta evidente esservi una netta distione, anche sul piano ecologico, tra *S. trutta fario* e *S. marmoratus*.

* * *

Sull'origine del *S. marmoratus* non è possibile esporre constatazioni prese, ma bisogna limitarsi a formulare ipotesi più o meno attendibili. Il stema idrografico del versante meridionale alpino non differisce attualmente modo sostanziale da quello di altre regioni montuose nel continente europeo, er cui non possiamo attribuire a particolari caratteristiche di esso la differenziazione di una trota nettamente distinta dalle altre viventi nei pur così ari corsi d'acqua del continente.

Questa considerazione non può essere ripetuta per quanto è avvenuto el passato e precisamente durante il Quaternario, periodo nel quale il susseguirsi delle successive glaciazioni sottopose la pianura padana ed ancor più utta la zona dell'alto Adriatico a condizioni particolarissime; queste consistettero essenzialmente in eccezionali trasgressioni e regressioni marine, le uali ultime estesero il sistema idrografico veneto-padano fino alla latitudine orrispondente alla città di Ancona (fig. 1). A causa del manto glaciale, che oprattutto durante l'ultima glaciazione rivestì l'intera catena alpina, la auna ittica dei corsi d'acqua montani fu sospinta verso i fiumi del piano, enendo così facilmente in contatto con una ampia zona lagunare salmastra, stremamente variabile nel tempo a causa del susseguirsi delle regressioni e asgressioni marine, determinate dallo sviluppo della glaciazione medesima.

Si ritiene perciò assai probabile che la trota marmorata abbia acquisito sue particolari caratteristiche specifiche durante la lunga permanenza in n ambiente costituito non già da corsi d'acqua montani, ma da grandi fiumi el piano e da un insieme di lagune salmastre con questi collegate.

Una parziale conferma dell'ipotesi ora avanzata può essere data dai due guenti fatti: in primo luogo è significativa la presenza del *S. marmoratus* on solo nel bacino idrografico veneto-padano, ma anche in alcuni dei principali corsi d'acqua del versante dalmato, i quali furono interessati dalle stesse icende durante il Quaternario, in quanto tributari dell'alto Adriatico; secondariamente i frequenti reperti di esemplari della specie non soltanto nella arte più bassa dei principali fiumi del veneto, ma addirittura nel mare, anche

Fig. 1.

ad alcune miglia di distanza dalla costa, dimostrano una particolare assue fazione della specie all'ambiente lagunare salmastro sopra ricordato.

È infine da mettere in evidenza il fatto che Otterstrom (1935), in una nota relativa al salmone ed alla trota marina dei mari danesi, ha pubblicat l'immagine del capo di un salmone i cui opercoli presentano le tipiche stria ture della trota marmorata. Questo particolare è di un certo interesse se s considera che il Mare del Nord ed il Baltico furono soggetti, durante il Qua ternario, a situazioni analoghe a quelle ricordate per l'alto Adriatico.

* * *

Recentemente si è creduto opportuno compiere una indagine sui principali rsi d'acqua dell'Italia settentrionale, allo scopo di determinare, con una rta precisione l'attuale distribuzione del *S. marmoratus*.

I risultati ottenuti vengono riportati nella figura 2. Dai dati riportati ulta evidente come la trota marmorata sia presente non soltanto in quasi tti i principali corsi d'acqua del Veneto e negli affluenti di sinistra del Po, me era stato accertato fino ad ora, ma anche nei più importanti affluenti destra fino al fiume Tanaro compreso. Inoltre vi sono alcune lacune, nella stribuzione di questa specie, le quali rivestono un certo interesse in quanto n è facile individuarne i motivi determinanti. I principali corsi d'acqua alpini cui è assente la trota marmorata sono: il fiume Oglio, in tutto il percorso monte del lago di Iseo; il Sarca (1) ed il Mincio, quest'ultimo fino ai laghi Mantova; l'Astico ed il Bacchiglione; il Serio ed il Brembo. Va precisato oltre che nel tratto inferiore dei principali corsi d'acqua padani (Sesia, ino, Adda, Adige e soprattutto Po, tra la confluenza del Sesia e quella l Mincio) la trota marmorata si trova solo saltuariamente, di preferenza gennaio-febbraio ed aprile-maggio. Inoltre vari tratti di corsi d'acqua, usi nell'*habitat* del *S. marmoratus*, ne sono in realtà privi o quasi, a causa inquinamenti o derivazioni di acqua, che ne hanno notevolmente alterato *facies* originaria.

Dall'osservazione dei dati riportati nella figura 2 risulta evidente come diffusione della trota marmorata non sia determinata da particolari con-zioni fisico-chimiche delle acque. Il fattore termico non sembra infatti avere particolare valore, in quanto la presenza di questa specie sia ad alta quota ell'Adige fino a m. 1500) sia al livello del mare (pianura veneta), la espone vivere in ambienti sottoposti ad escursioni termiche notevolmente diverse. r analoga ragione non sembra siano da prendere in considerazione particolari genze di ossigenazione delle acque. Altrettanto può dirsi per quanto riguarda contenuto in sali e la reazione chimica delle acque costituenti l'*habitat* della ecie, essendo essa presente sia in zone con larga prevalenza di rocce silicee, reazione leggermente acida sia in zone essenzialmente calcaree a reazione calina. Non è perciò facile individuare con sicurezza i motivi per cui il *marmoratus* è presente in quasi tutti i corsi d'acqua alpini ed in alcuni lla Dalmazia, mentre è completamente assente da tutti i fiumi appenninici, nto se affluenti del Po come se diretti tributari dell'Adriatico.

L'unica constatazione che può contribuire alla formulazione di un'ipotesi una certa validità, sta nel porre in evidenza la coincidenza tra le caratte-

---

(1) Recentemente, in seguito all'entrata in esercizio per brevi periodi della galleria di cordo Adige-Garda, alcune trote marmorate sono entrate nel lago di Garda. Due esem-ri di questa specie, di notevoli dimensioni, sono stati pescati nel Sarca, circa a un chilo-tro a monte della foce. I pescatori locali non ricordano siano avvenute nel passato altre ture di trota marmorata nel Sarca.

ristiche geologiche della zona di diffusione della trota marmorata e quelle delle località dove essa non è presente, pur essendo esse comprese nel bacino imbrifero dell'alto Adriatico.

Si nota infatti come la specie sia diffusa in quasi tutte le acque che hanno origine in terreni appartenenti all'era secondaria, mentre la sua assenza coincide con il prevalere di terreni dell'era terziaria. La saldatura tra queste due regioni geologiche si determina, per quanto riguarda il versante padano, tra l'alta valle del Tanaro e le alte valli della Bormida; in coincidenza a questo fatto la trota marmorata è presente in quasi tutti i corsi d'acqua delle Alpi marittime (Pesio, Erro, Corsaglia e Tanaro a monte di Ceva) ed assente in tutti i fiumi appenninici situati più ad oriente, a cominciare dai contigui Belbo, Bormida, Orba fino a quelli diretti tributari dell'Adriatico.

Per chiarire i motivi di questa situazione si ritiene possa essere utile considerare la diversa durezza delle rocce costituenti il bacino imbrifero dei vari corsi d'acqua, essendo tale elemento essenziale per la formazione delle zone di frega della trota. Le rocce presentano una durezza maggiore in tutta la catena alpina, nella quale predominano scisti cristallini, graniti, dolomie; minore nell'Appennino settentrionale, dove si ha prevalenza di argille, arenarie e rocce calcaree recenti.

La diversa natura delle rocce ha una importanza fondamentale nella formazione dei depositi fluviali: da essa dipende la grossezza degli elementi costituenti o, più precisamente, la proporzione tra i vari elementi stessi. È evidente che l'azione di erosione e trascinamento esercitata dall'acqua su rocce tenere trasforma la maggior parte di esse in sabbie e fanghi, rimanendo una porzione minore allo stato di ciottoli e ghiaie; il contrario avviene nel caso di rocce dure. Esaminando infatti i depositi presenti nel letto di due corsi d'acqua di caratteristiche analoghe (altitudine, pendenza, portata, ecc.) e scorrenti in terreni di natura diversa si nota che, a parità di velocità di corrente e di peso specifico delle rocce, si depositano elementi di uguale grossezza. Ma mentre nel caso di terreno a rocce dure in un deposito di ciottoli e ghiaia si trova frammista soltanto una piccola percentuale di sabbia, quando prevalgono le rocce tenere, nei depositi analoghi, il quantitativo di sabbia e fanghi è spesso maggiore a quello dei ciottoli e della ghiaia. Questa diversa costituzione dei depositi detritici si attenua nel piano ed anche in alta montagna: quivi la pendenza dell' alveo è tale da non permettere che in minima parte la sedimentazione degli elementi più piccoli (sabbie e fanghi).

Le zone di frega dei salmonidi sono costituite da depositi di ghiaia, la quale può essere frammista solo a piccole quantità di sabbia o fango. È stato dimostrato infatti (Stuart 1956) come i depositi di ghiaia prescelti dai salmonidi per la frega siano quelli percorsi da una corrente d'acqua che penetra all'interno di essi. Perchè possa manifestarsi questa corrente tra i singoli elementi della ghiaia sono necessarie due condizioni: un particolare orientamento del deposito ghiaioso nel letto del corso d'acqua e l'assenza di sabbia

FIG. 2. — Trota marmorata presente nei corsi d'acqua segnati con linea continua. Trota marmorata assente nei corsi d'acqua segnati con linea punteggiata.

n o fango negli spazi esistenti tra gli elementi più grossi del ghiaieto (1). Per ragioni esposte più sopra questa seconda condizione non si verifica in genere corsi d'acqua provenienti dalla zona appenninica, a causa della troppo a percentuale di sabbia e fanghi nei depositi fluviali; si ritiene quindi che ssenza del *S. marmoratus* in tali corsi d'acqua sia da attribuire alla manza di zone di frega nel tratto principale di essi ed alla portata troppo gua degli stessi nel tratto più elevato.

È stato detto all'inizio di questa nota come il *S. marmoratus* si trattenga preferenza nei corsi d'acqua scorrenti nelle vallate principali ed in alcuni maggiori affluenti laterali. Questo fatto è senza dubbio in relazione alle atteristiche di rapido accrescimento e di voracità di questa specie emitemente carnivora, in quanto soltanto i fiumi ed i torrenti di una certa piezza possono offrirle quella abbondanza di alimento che le è indispenile. Perciò mentre il *S. trutta fario*, per le sue più modeste esigenze troe, ha la possibilità di insediarsi anche nei piccoli torrentelli di alta monna, risalendovi dal basso qualora non trovi condizioni idonee a valle, il *marmoratus* ha piuttosto tendenze opposte, quelle cioè di discendere talvolta so il piano, dopo effettuata la deposizione o in occasione di forti piene.

Una conferma dell'ipotesi ora esposta si può constatare nella particolare azione esistente nei corsi d'acqua del versante settentrionale delle Alpi rittime: Pesio, Erro, Corsaglia e Tanaro. La zona montana del bacino imfero di questi fiumi è costituita da terreni di differenti caratteristiche geoiche: nella parte più bassa contigua alla pianura padana vi sono terreni origine terziaria, di formazione analoga a quelli presenti nella vicina regione penninica; la parte più elevata è costituita invece da terreni appartenenti era secondaria, come si osserva nella intera catena alpina. Orbene la preza della trota marmorata nei suddetti fiumi è limitata al tratto più elevo (fig. 2), mentre negli altri corsi d'acqua, anche molto prossimi (Gesso, ra, Maira, Varaita, ecc.), essa è presente non solo in tutto il tratto mono, ma molto spesso anche nella contigua zona di pianura, in quanto l'alveo iale è quivi costituito in prevalenza da materiale detritico asportato dalla ca zona alpina. Il fatto della presenza del *S. marmoratus* nei torrenti delle valli delle Alpi Marittime, prive di collegamento diretto con gli altri si d'acqua abitati dalla medesima specie, potrebbe meravigliare considedo la situazione attuale della rete idrografica padana, ma se si tiene conto quale sia stato il percorso seguito dal Tanaro e dai suoi affluenti nel Quaario antico (fig. 3), risulta evidente come la trota marmorata abbia potuto diarsi con notevole facilità anche in tale zona, in quanto i corsi d'acqua essa derivanti erano in diretto collegamento con quelli provenienti dalle i Cozie.

---

(1) È noto come le femmine dei salmonidi, prima di deporre le uova, preparino una idonea alla deposizione stessa sommovendo i ciottoli del fondo, allo scopo di disperla sabbia ed il fango ad essi eventualmente frammisti. Tale preparazione è resa possibile nto se la sabbia e il fango siano presenti in quantitativi modesti.

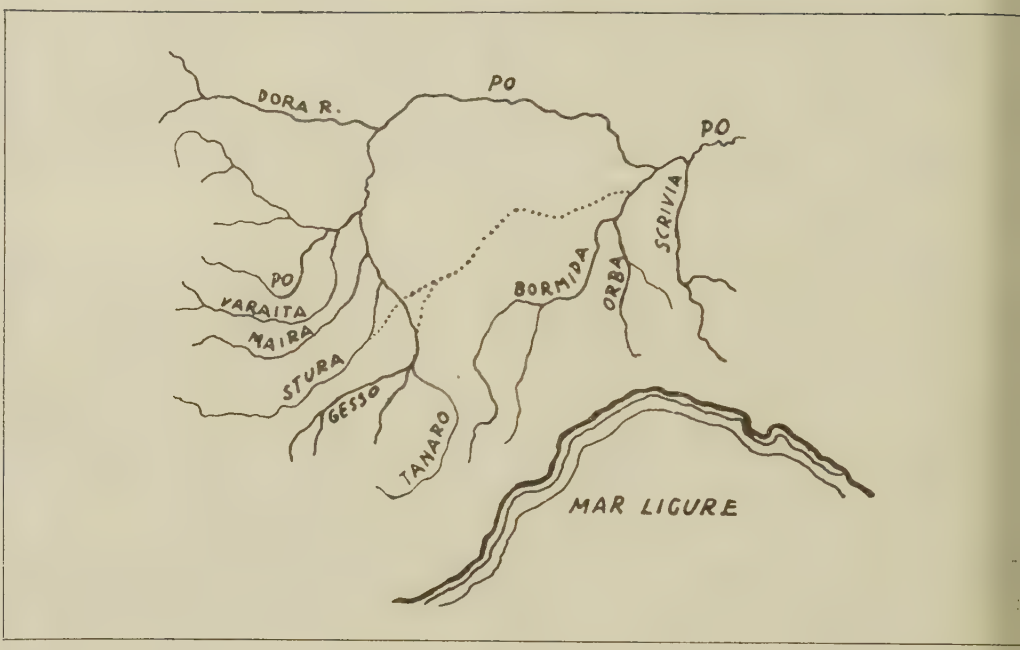


Fig. 3.

È infine da rilevare come in Italia il temolo (*Thymallus thymallus* L. abbia una distribuzione in parte analoga a quella della trota marmorata. Tenendo presente che le due specie si riproducono ambedue nel tratto principale dei corsi d'acqua alpini (generalmente il temolo un po' più a valle della trota marmorata), non è da escludere che pure analoghe siano le ragioni della loro particolare diffusione.

Riassunto

Si ritiene che il *Salmo marmoratus* Cuv. sia una entità specifica distinta dal *S. trutta fario*. Viene avanzata l'ipotesi che questa specie si sia differenziata in seguito alle particolari condizioni ecologiche verificatesi nella regione padana durante le glaciazioni del Quaternario. Dopo aver esaminata l'attuale distribuzione del *S. marmoratus* nell'Italia settentrionale, si deduce che la presenza di questa specie è legata alla natura dei terreni (roccie dure) costituenti il bacino imbrifero dei singoli corsi d'acqua, in quanto tale fattore è determinante per la formazione delle zone di frega nei tratti dei corsi d'acqua costituenti l'*habitat* della specie.

Résumé

On estime que le *Salmo marmoratus* Cuv. constitue une entité à part, nettement distincte du *S. trutta fario*. On avance l'hypothèse selon laquelle cette espèce se serait différenciée sous l'influence de conditions écologiques

Fig. 1. Esemplare di trota marmorata (*Salmo marmoratus* Cuv.) del peso di gr. 3.000 tenuto in allevamento [illegible] indice fino dall'età di due anni.

rticulières, qui se sont réalisées dans la région du Po pendant les glaciations
l'ère quaternaire. Après avoir analysé la répartition actuelle du *S. marmo-tus* dans l'Italie du nord l'auteur déduit que la présence de cette espèce t liée à la nature des terrains (roches dures) qui constituent le bassin ver-nt de chaque cours d'eau.

Summary

It is considered that *Salmo marmoratus* Cuv. is a separate species, clearly stinct from *S. trutta fario.* and it is assumed that this species would have en differentiated during glaciations of the quaternary period in the region the Po river, under the influence of certain ecological conditions. From an amination of the present distribution of *S. marmoratus* in Northen Italy, Author infers that the presence of this species is connected with the nature the ground (hard rocks) which forms the catchment zone of each stream.

BIBLIOGRAFIA

ELPINO I. (1935): *La « Trutta genevittata »* (Hechel-Kner, 1958) *nell'Adige.* « Rend. R. Acc. Naz. Lincei » *21,* ser. 6°, 1° sem., 1.

ELPINO I. (1936): *La diffusione e la distribuzione in Italia della « Trutta genevittata ».* « Boll. Pesca, Piscic. e Idrobiol. », *11,* 1.

RIDELLI E. (1935): *Le trote della Venezia Giulia.* « Note Ist. Biol. Mar. Rovigno », 16.

RIDELLI E. (1936): *I pesci d'acqua dolce della Venezia Giulia.* D. Del Bianco, Udine.

TTERSTROM C. (1935): *Laks og Orred. – En Vejledning til Bestemmelse.* « Ferskvandsfiskeri-bladet », *4.*

OMINI P. (1939): *Ricerche sullo sviluppo delle trote italiane: stadi larvali e primi stadi post-larvali.* « Arch. Zool. Ital. », *27.*

OMINI P. (1940): *Il problema biologico dei* Salmo. « Arch. Zool. Ital. », *28.*

OMMANI E. (1948): *Sulla presenza del* Salmo fario *L. e del* S. marmoratus *Cuv. nell'Italia settentrionale.* « Boll. Pesca, Piscic. e Idrobiol. », *24,* 1.

UART T. (1956): *The selection of spawning sites by trout.* « Proc. Limnol. Soc. London » sess. 167, pt. 1, 12 july.

FENOMENI ALTERATIVI DEL PESCE E METODI CHIMICI PER IL LORO RICONOSCIMENTO [1]

ANTONIO MONTEFREDINE e CONCETTA TESTA

LABORATORIO CHIMICO PROVINCIALE DI IGIENE
ISTITUTO SPERIMENTALE PER L'IGIENE ED IL CONTROLLO VETERINARIO DEI PRODOTTI DELLA PESCA
PESCARA

Introduzione

Il pesce è, senza dubbio, un alimento pregiato soprattutto per la qualità e la quantità di proteine che contiene.

Il prof. Marotta (1) nel 1938 ha messo in evidenza le qualità del pesce come alimento proteico, sottolineando che la carne di pesce contiene, a seconda della specie, dal 16,23 al 23,02 % di sostanze azotate, quantità leggermente superiore a quella degli animali a sangue caldo che, per i bovini, è compresa tra il 15,30 % ed il 19,30 %. Anche il contenuto in amminoacidi essenziali è, secondo Marotta, all'incirca equivalente per la carne di pesce e quella di bue o di pollo. Questi valori sono in accordo con quelli trovati da Cartenì e Aloi (2) per i pesci del Mediterraneo, nei quali il contenuto proteico varia da un minimo del 15 % ad un massimo del 25 % con un valore medio del 20,55 %.

Nel pesce abbiamo inoltre una quantità notevole di estrattivi (in media 1,5%) che a differenza degli altri costituenti sono soggetti a notevoli fluttuazioni; questi estrattivi sono presenti nel pesce in quantità molto maggiori che nel muscolo dei mammiferi, e comprendono basi azotate (ossido di trimetilamina, amine, ecc.), amminoacidi liberi (taurina, glicina, ecc.), peptidi semplici (anserina, glutatione), purine e derivati purinici, carboidrati, ecc.

Numerose ricerche, sia chimiche che biologiche, eseguite nei diversi paesi permettono anche di affermare con assoluta certezza che il valore biologico delle proteine della carne di pesce è altissimo, per nulla inferiore a quello della carne dei mammiferi e degli uccelli, ed inoltre, a differenza della carne dei mammiferi, la carne dei pesci è qualitativamente e quantitativamente ricca di sostanze minerali e di vitamine.

Queste caratteristiche che conferiscono alla carne di pesce un elevato valore alimentare si riscontrano però nel pesce fresco, ed invece, purtroppo, come è noto, la carne di pesce è molto facilmente deperibile.

---

(1) Relazione svolta alle « Sette giornate veterinarie prodotti della pesca » Ancona, 29 giugno 1960.

Il pesce per potersi chiamare fresco deve presentare caratteri organolettici ici e chimici simili a quelli del pesce vivo. La necessità di poter raggiungere ne di pesca più lontane, allo scopo di venire incontro ai bisogni di una po- lazione sempre crescente, ha incrementato lo sviluppo della pesca di altura n motopescherecci e quindi è sorto il problema della conservazione del pe- ato, che si pone soprattutto per alcuni paesi come il Canadà e la Norvegia, i ali, avendo una produzione superiore al consumo interno, debbono esportare località molto lontane, ma in queste condizioni è sempre più difficile sbarcare a maggior ragione vendere pesce fresco.

Esistono quindi due problemi: quello di conservare i caratteri di freschezza l pesce per un periodo di tempo più lungo e quello di accertare il suo grado alterazione.

La soluzione di entrambi i problemi ha come presupposto la conoscenza i fenomeni biochimici che si verificano durante l'alterazione del pesce.

È impossibile raggruppare in un unico schema i complessi fenomeni di razione del pesce, che dipendono dalla specie dei pesci, dai metodi e dalle zioni di pesca, dai fondi marini ed infine dalla entità e dalla natura della rica batterica.

Questa complessità di fenomeni porta alla formazione dei più disparati mposti chimici e quindi sono state proposte molte reazioni per il riconosci- nto dei diversi prodotti che si possono originare durante l'alterazione dei pesci.

In Italia manca uno studio su questo argomento che adegui la larga messe risultati sperimentali, raccolti soprattutto in America, in Inghilterra ed in appone, alla nostra fauna ittica ed alla nostra tecnologia della pesca. È me- o del Centro Studi Ittici di Pescara, fondato e diretto dal volitivo e dinamico ico Ciani, avere affrontato la soluzione di questo interessante problema. l Laboratorio Chimico Provinciale di Pescara noi e i nostri collaboratori i quali ricordiamo i fedelissimi Orlandi, Sebastio, D'Orazio ed il giovane rna, e le dottoresse Cavallone, Morelli e Simongini abbiamo dedicato cinque ni di intensa attività a queste ricerche e pertanto abbiamo ritenuto oppor- no coordinare in questa rassegna le nostre attuali conoscenze sulla altera- ne dei pesci e sul riconoscimento del loro grado di freschezza augurandoci e essa possa costituire la piattaforma per una più completa trattazione ll'interessante argomento.

I FENOMENI ALTERATIVI DEL PESCE

Il pesce appena catturato è commestibile e sano (3), la presenza di pesci enosi è, normalmente, limitata alla zona equatoriale (4) ed i parassiti del co e della carne (5–6) sono in genere inoffensivi per l'uomo: il più pericoloso essi, il botriocefalo, si trova raramente in Italia e solo tra i pesci d'acqua ce (7).

Gli avvelenamenti alimentari causati dai pesci sono poco frequenti rispetto uelli provocati dagli altri alimenti proteici (8) e sono dovuti esclusivamente

al pesce alterato; infatti i numerosi batteri presenti nel pesce alterato sono raramente pericolosi per gli animali a sangue caldo (9); i prodotti di degradazione della carne di pesce originati dal metabolismo batterico o dall'attività enzimatica possono al contrario essere causa di intossicazioni alimentari: infatti se alcuni di essi, come la trimetilammina (10–11) e l'ammoniaca (12) non sono dannosi, altri non sempre perfettamente identificati, sono decisamente tossici ed inoltre non sono accompagnati da odori che ne impediscano l'ingestione (13).

Altri prodotti tossici anche essi privi di odore che ne preavvisi la presenza, possono svilupparsi fin dai primi stadi di alterazione, come l'istamina (14–15–16–17) e la pelamitossina (18) degli sgombridi. Sulla tossicità dei prodotti della pesca esiste una vastissima ed accurata rassegna del prof. Mantovani (19) alla quale rimandiamo chi desideri approfondire l'argomento. Ma queste osservazioni preliminari ci sembrano sufficienti per affermare che è assolutamente necessario poter stabilire lo stato di alterazione del pesce per sapere da quale momento esso cessa di essere commestibile.

Le alterazioni della carne di pesce durante la conservazione, siano esse di origine batterica che enzimatica, consistono in modificazioni dei caratteri organolettici chimici e fisici.

Secondo Stansby e Lemon (20) nella decomposizione del pesce si possono distinguere due fasi:

1) modificazioni che dalle proteine portano, attraverso i polipeptidi ed i peptoni, alla formazione di ammino acidi;

2) modificazioni secondarie provocate dall'azione batterica e che portano alla formazione di ammine, idrogeno solforato, indolo e scatolo.

Anche Beatty e Collins (21) e Collins (22) ammettono l'esistenza di due distinte fasi nell'alterazione del pesce di mare, ma con una progressione completamente diversa:

1) riduzione dell'ossido di trimetilammina ad ammina e contemporanea ossidazione dell'acido lattico ad acido acetico ed anidride carbonica;

2) degradazione delle proteine con formazione di ammoniaca, idrogeno solforato, indolo, ecc.

Ma secondo l'opinione di Tarr (23), anche da noi condivisa, l'alterazione del pesce è un processo molto complesso e non si può rappresentare con uno schema costante. Ad essa contribuisce in massima parte l'alterazione batterica, però la denaturazione proteica e l'irrancidimento dei lipidi hanno pure la loro importanza.

Modificazioni dei caratteri organolettici

Le prime ad essere descritte sono state le modificazioni dei caratteri organolettici, risale al 1907 (24) una dettagliata descrizione del processo di alterazione del pesce, e sulle modificazioni dei caratteri organolettici sono basati molti sistemi per arrivare ad una valutazione quanto più possibile oggettiva della qualità del pesce. Dopo gli studi di Boury e Schwinte (25), di Stansby

;) e di Reay e Shewan (27), abbiamo quello più recente dello stesso Shewan collaborazione con Ehremberg (28), ed infine quello italiano proposto da tioli e Ciani (30).

L'alterazione modifica innanzitutto l'aspetto esterno del pesce: i pigmenti decolorano progressivamente causando modificazioni del colore, sulla scorta lle quali Tretiakov (31) aveva basato un criterio di giudizio per l'alterazione i pesci d'acqua dolce. Il pesce pescato di recente ha una superficie lucente, lescente che presenta colori vivaci e caratteristici ed è coperta da un sottisimo strato di muco, limpido quasi come l'acqua, trasparente, liscio, omoneo. Le branchie hanno generalmente un colore che va dal rosso chiaro al so scuro, variabile a seconda della specie, e sono prive di qualsiasi strato di co. La consistenza delle carni è molle e vi rimane impressa l'impronta delle ; però presto, quando comincia il rigor-mortis, la carne diventa più consiite ed elastica, non può essere asportata prontamente dalla spina dorsale on lascia uscire facilmente del succo mediante pressione.

Grande importanza assume l'aspetto dell'occhio, particolarmente le differze di opacamento del cristallino, come mezzo idoneo soprattutto al riconoiento del pesce congelato, che, dopo congelazione, può venir messo in comrcio come pesce fresco.

Su questo argomento si sono intrattenuti recentemente l'inglese Love (32) in Italia Pepe, Simongini e Bellafante (33) che ne hanno riferito alle Giornate Veterinarie della Fiera della Pesca in Ancona, nel luglio scorso.

L'odore del pesce si modifica sostanzialmente durante i processi alterativi: pesce fresco l'odore, sia esternamente che nella carne, è quello caratteristico i mare » o di « alga marina »; si credeva che la trimetilammina fosse la causa caratteristico odore di pesce, ma Reay e Shewan (34) hanno precisato che dore della trimetilammina è caratteristico del pesce stantio.

Obata e coll. (35-36) hanno dimostrato che la mucillagine superficiale del mone, per effetto dell'azione batterica emana un odore disgustoso dovuto a piperidina, all'acido e all'aldeide d-amino-valerianica e ritengono che i cursori di questi composti siano la lisina e l'arginina. Questi AA. concludono l'odore del pesce fresco dipende dai prodotti di reazione della piperidina e l'aldeide piperidinica (probabilmente 1-1-bis-etan-piperidina), questi comti emanano odore di pesce di acqua dolce, ed uniti alla trimetilammina ginano l'odore di pesce di mare. Yamanishi e Matsuzaka (37) hanno separato la seppia sia la piperidina che il suo precursore: la lisina. L'odore di acido ino-valerianico è caratteristico del pesce in incipiente stato di alterazione Amano (38) ha isolato una sostanza simile all'acido iso-valerianico che rie caratteristica dell'odore putrido che emana il pesce spada in fase di alteione verde. L'apparizione dell'odore di mercaptano e di indolo caratterizza, dentemente, la fase di alterazione putrida.

Quando il pesce si deteriora la superficie esterna perde la sua lucentezza, si pre di uno strato di muco più spesso, il quale diventa straordinariamente bido ed alla fine sviluppa colori sporchi: gialli o bruni. Le branchie si scono e diventano prima leggermente rosee ed alla fine di un giallo tendente al

grigio e contemporaneamente si ricoprono di uno spesso strato di muco. Lungo la spina dorsale al disopra della cavità viscerale, si sviluppa nella carne, diffondendosi dal rene verso la coda una colorazione bruna rossastra dovuta alla formazione di meta-emoglobina in seguito alla diffusione dei globuli rossi dell'aorta.

Anche il sapore si modifica rapidamente durante la conservazione del pesce: ad opera di Young (39), di Dyer e Dyer (40–41), di Shewan e coll. (42) sono stati fatti studi statistici dell'alterazione del pesce attraverso la degustazione del pesce cotto effettuata da squadre di esperti. Stansby (43) attribuisce molta importanza alla degustazione del pesce cotto nella valutazione dei caratteri organolettici.

Una delle prime modificazioni che si verificano dopo la morte del pesce è l'insorgere del rigor-mortis che però scompare in breve tempo, anche se il pesce è conservato nelle condizioni più favorevoli, per dare origine ai processi autolitici di decomposizione della molecola proteica; contemporaneamente alla autolisi, trascurabile in condizioni normali, ha inizio la decomposizione batterica. Quando cessa il rigor-mortis, la consistenza della carne diminuisce (44–45) sia pure in misura diversa, secondo la regione del corpo, l'individuo, la specie, ecc. Col cessare della vita comincia la disorganizzazione dei tessuti ed i costituenti glucidici, lipidici e proteici degradano con un complesso susseguirsi di reazioni chimiche.

Modificazioni batteriologiche

Le modificazioni che subisce la carica batterica durante la conservazione del pesce sono, senza dubbio, la causa prima di tutti i fenomeni alterativi che progressivamente vengono ad instaurarsi nel muscolo dei pesci. Dice esattamente Artioli (46) che « nei pesci lo stato di conservazione è in diretta funzione dello sviluppo della flora microbica », ed aggiunge: « per poter conservare più a lungo i prodotti ittici sarà necessario che i microorganismi non entrino nella fase logaritmica di crescita, o vi entrino il più tardi possibile, per cui occorre prolungare al massimo la fase di lenta crescita, ossia la « lag phase ».

Questo giustifica la grande quantità dei lavori dedicati allo studio della batteriologia del pesce, argomento nel quale non ci possiamo approfondire, ma che trattiamo limitatamente ai suoi rapporti con l'alterazione dei prodotti della pesca.

Contrariamente ad una credenza molto diffusa l'acqua del mare non è sterile, bensì povera di batteri rispetto all'ambiente terrestre: vicino alle coste è inquinata dai batteri del suolo, dell'aria e delle acque dolci che vi si versano; la contaminazione è più marcata in vicinanza degli estuari e dei porti, diminuisce in profondità, ma aumenta in prossimità del fondo (47–48). Secondo Zobell (49) il numero dei batteri ammonta a qualche centinaio per ml al largo ed arriva a qualche milione nella melma. Lipman (50) nelle acque vicino al molo di Tortugas trova una carica batterica di 600-900 mila germi per ml., che si riducono a 200-300 ad un miglio dalla costa.

In Italia, Gabbano (51) esaminando dal punto di vista batteriologico le
:que marine della costa ligure in punti lontani da ogni possibile inquinamento,
modo che le acque potevano ritenersi pure, non ha mai riscontrato un numero
germi superiore a 110/ml. (minimo 4 – media 39) e non ha trovato il *Bacterium*
li in 150 ml. di acqua. Le specie che si riscontrano più facilmente sono indi-
te nella tabella n. 1, dalla quale emerge l'assenza del *Coli aerogenes*; le specie
olate sono frequentemente le stesse (52–53–54), pur riscontrandosi variazioni
cali (54) e stagionali (52) sia per quanto riguarda le specie che la loro frequenza.

Sono questi gli stessi microorganismi che si riscontrano pure alla superficie
l pesce, il quale, immediatamente dopo la cattura, presenta una flora analoga
quella dell'ambiente nel quale vive; infatti secondo Wood (69) i batteri che
vono alla superficie dei pesci sono un gruppo specializzato della flora marina,
ndizionato all'ambiente. Invece secondo Hunter (70), Fellers (71), ed Har-
on (72) i batteri associati al pesce fresco ed a quello in via di alterazione
partengono al tipo dell'aria e del suolo, presentano però un optimum di ri-
oduzione a temperature più basse. La maggior parte dei batteri associati
pesce sono infatti dei psicrofili facoltativi che si sviluppano a temperature
mprese fra — 7,5° e + 30°C, optimum 10°–15°.

La carica batterica iniziale varia secondo la stagione, è massima in estate
3–74), ma si deve sempre tener conto dell'apporto secondario provocato dal
ntatto con gli attrezzi da pesca con il battello, con l'uomo, ecc., apporto che
uò essere molto importante e può variare sia qualitativamente che quantita-
vamente.

Come si vede dalla tabella n. 1 la flora aerobica è quella che normalmente
ene considerata del tipo autoctono rispetto al suolo, all'aria, ed all'acqua,
gli stessi gruppi, sia pure in diversa percentuale, sono presenti in tutti i casi.

Poche ricerche sono state fatte sugli anaerobi che sono stati rinvenuti
uasi esclusivamente nelle feci. Tuttavia essi hanno un ruolo importante nella
eteriorazione del pesce. Il *Clostridium botulinum* nel pesce fresco da poco pe-
ato è stato trovato solo nello storione del Caspio da Burowa e Naslesisheva
5), da Burowa (76) e da Dobrowsky (77). L'*Escherichia coli* è stato trovato
lo se il pesce veniva catturato nelle acque costiere inquinate.

Griffit (78) in una sua pregevole rassegna sulla batteriologia del pesce
tiene che, nel caso del muscolo, sia necessario stabilire se i numerosi microor-
anismi che vi si rinvengono derivano da germi pre-esistenti o se piuttosto
on sono prodotti da una contaminazione secondaria.

Alcuni AA. sostengono che i muscoli di pesce o di crostaceo sono sterili
9), Gee (80–81) invece ha riscontrato la presenza di batteri nel muscolo del
5 % dei pesci esaminati, che però erano stati catturati in acqua di estuario.
roktor e Nicherson (82) hanno effettuato una serie di semine con le diverse
one del muscolo dell'eglefino, variando le condizioni sperimentali, ed hanno
tenuto lo sviluppo di pochissimi germi. Recentemente la sterilità del muscolo
stata sostenuta da Tarr (23) ed in Italia Mura D. e Tanda S. (83) pervengono
la stessa conclusione in base ai risultati di indagini batteriologiche prati-
te su 444 pesci catturati nel mar di Sardegna. Si può concludere che il mu-

TABELLA N. 1

Popolazione batterica del mare e dei pesci in percento dei germi riscontrati

MATERIALE ANALIZZATO	Numero campioni	*Pseudomonas*	*Micrococcus*	*Serratia*	*Acromobacter*	*Proteus*	*Flavobacter*	*Bacillus*	AUTORE
Atlantico del Nord (Halifax) ..	—	—	++	—	++	—	++	—	Sambor (52-53)
Pacifico del Nord (Canadà) ..	—	—	16	19	34	—	30	—	Bedford (55)
Oceano Indiano (Australia) ..	—	10	34	—	26	—	18	12	Wood (54)
Muco dei pesci									
Specie diverse	43	17	40	2	17	—	17	7	Gibbons (56)
Salmone	—	8,4	12,6	—	53,7	+	4,9	1,5	Snow e Beard (57)
Eglefino vivo	11	22	4	—	23	18	8	24	Read e Spence (58)
Eglefino vivo	—	5	22	—	56	—	11	1	Stewart (59-60)
Merluzzo vivo	12	+	74	—	+	+	+	—	Dyer (61)
Specie diverse	—	4	35	—	26	—	21	7	Wood (54)
Merluzzo (giugno)	12	0	31,7	—	55,2	—	4,9	1,25	Shewan (62)
Merluzzo (ottobre)	12	5,8	7,0	—	60,4	—	17,1	0,4	Shewan (62)
Merluzzo dell'Adriatico	—	6,7	29,4	—	21	5,9	16	(*a*) 4,2	Giannelli (63)
Aringhe Shetland	—	11	24	—	42	—	13	—	Shewan (64)
Merluzzo Norvegia	—	5	14	—	48	—	25	—	Thjotta e Somme (65)
Aringhe Norvegia	—	40	16,7	—	24,5	—	17,7	—	Aschehoug e Vesterhus (66)
Feci dei pesci									
Specie diverse	43	9	18	—	50	+	9	9	Gibbons (56)
Eglefino vivo	34	8,7	—	—	4,4	70	5,6	(*b*) 5,7	Reed e Spence (58)
Eglefino, salmone, sardine ...	—	+	0	—	++	0	+	—	Stewart (59-60)
Specie diverse	—	—	+	—	++	—	+	—	Lumley e coll. (67)
Merluzzo vivo	—	+	66	—	+	+	+	—	Dyer (61)
Maccarello	—	+	+	—	++	—	+	—	Kiser e Bechwith (68)
Merluzzo di Norvegia	—	—	11	—	55	—	—	(*c*)	Thjotta e Somme (65)
Aringhe di Norvegia	—	24,1	3,4	—	72,5	—	—	—	Aschehoug e Vesterhus (66)
Branchie dei pesci									
Pesci vari Australia	—	7	41	—	31	—	12	—	Wood (54)
Aringhe di Norvegia	—	47	3,9	—	33,4	—	13,7	—	Aschehoug e Vesterhus (66)

(*a*) Inoltre: Batteri 10 %, Gaffkya 4,2 %, Escherichia 2,5 %. — (*b*) Inoltre: 4,6 % di Aerobacter. — (*c*) Inoltre: 33 % di specie varie.

olo del pesce vivo, seppure non è perfettamente sterile contiene al massimo ri germi. Alcune specie di batteri sono più resistenti alla conservazione ed al ngelamento, certamente l'attività biochimica dei batteri marini sarà più tensa nell'intervallo di temperatura optimum come dimostrano le ricerche Hess (85), Muller (86) e Kiser (87) che sono riportate nella tabella n. 2. Però

Tabella N. 2

Influenza della temperatura sulla durata della fase lenta nello sviluppo dei batteri marini

TEMPERATURA	Durata della fase lenta (ore)		
	Pseudomonas fluorescens (Muller 1903) (86)	*Pseudomonas fluorescens* (Hess 1934) (88)	*Achromobacter* (Kiser 1944) (89)
30°	6	—	—
25°	—	—	3 – 4
20°	—	24	—
12°	12 – 24	—	—
7°	—	—	12 – 28
6°	32	—	—
5°	—	72	—
0°	120	96	—
— 3°	—	144	—
— 4°	—	—	125 – 193

ess ha osservato che sebbene lo sviluppo fosse molto rapido a 20°–25° il mas-mo sviluppo totale si ebbe a + 5° con *Pseudomonas fluorescens*, *Flavo-bacter ciduosum* e *B. vulgatus*, in alcuni casi si ottennero raccolti maggiori a 0° che 20°. Queste osservazioni assumono particolare rilievo in relazione al crescente iluppo della conservazione frigorifera dei prodotti della pesca. A questo ri-ardo aggiungiamo che, sebbene secondo Hess (85) e Kiser (87) la maggior rte delle attività biochimiche resista solo fino a 0° o nelle immediate vicinanze 0°, Samborn (90) ha riscontrato una proteolisi attiva a — 5°. ed Horowitz-lassova e Grinberg (91) hanno avanzato l'ipotesi che l'adattamento a basse mperature si manifesta con un aumento dell'attività biochimica, che diviene ù intensa di quella mostrata inizialmente a quella temperatura.

Durante la conservazione la flora batterica del pesce subisce non solo considerevole aumento ma altresì un cambiamento di composizione (tabella 3). Secondo Wood (54) al momento della pesca sono presenti soprattutto *avobacter* e *Micrococcus* che vengono poi rapidamente soppiantati dagli

TABELLA N. 3

Variazioni di composizione nella flora batterica del pesce fresco e conservato

MATERIALE ANALIZZATO	*Pseudomonas*	*Micrococcus*	*Acrobacter*	*Flavobacter*	*Bacillus*	AUTORE
Muco del merluzzo del Mare del Nord	5,0	22,0	57,0	11,0	—	Stewart (60)
Muco del merluzzo dopo 6–7 giorni in ghiaccio	3,0	11,0	66,0	20,0	—	Stewart (93)
Salmone dopo 24–72 ore	—	41,2	22,8	20,6	5,2	Fellers (71)
Salmone dopo 96–145 ore	—	13,8	61,4	11,7	2,8	Fellers (71)
Muco aringhe norvegesi fresche	40,0	16,7	24,5	17,7	—	Aschehoug e Vesterhus (66)
Muco aringhe conservate a 1–8° per 6–11 giorni	33,7	0,8	58,5	7,0	—	Aschehoug e Vesterhus (66)

Achromobacter e *Pseudomonas*. Anche Watson (94) e Stewart (93) confermano il prevalere degli *Achromobacter* dop 5-6 giorni di conservazione a + 2°, Zobell e Upham (95) rilevano che le specie dominanti sono *Achromobacter*, *Pseudomonas*, *Flavobacter* ed in grado minore *Proteus* e *Bacillus*. Tarr (23) conferma che i batteri della putrefazione che invadono la carne di pesce sono simili a quelli del loro ambiente marino: generalmente prevalgono *Achromobacter*, *Pseudomonas*, *Flavobacter* e *Micrococcus*, mentre *Sarcina*, *Proteus* e *Bacillus* sono meno frequenti; durante i primi stadi dell'alterazione (specialmente nei teleostei) predominano i *Micrococchi* ed i *Flavobacter*, man mano che la putrefazione progredisce prendono il sopravvento gli *Pseudomonas* e gli *Achromobacter*. Secondo recenti vedute di Wood (96) e dello stesso Tarr (97) una grande proporzione dei batteri deterioranti sarebbe rappresentata dai generi *Corynebacterium* e *Mycoplana*. Queste nuove ricerche, secondo Tarr, non consentono più di sostenere che durante l'alterazione del pesce si verifichi quella successione delle specie batteriche precedentemente prospettata (23).

Questa varietà e quest'alternanza della flora batterica può, sia pure parzialmente, confermare la complessità dei fenomeni chimici di alterazione. Anche nei pesci le proprietà biochimiche della flora batterica sono molto diverse e solo a causa del gran numero di ceppi esistenti si finisce per avere nell'insieme un comportamento all'incirca costante, però le alterazioni variano con la composizione della flora batterica.

Sono state fatte molte ricerche (57–98–99–100) per stabilire in che modo le caratteristiche biochimiche dei diversi gruppi batterici intervengano nel

ocesso di deteriorazione che si instaura nel pesce, si è giunti però solo a ri-
tati parziali. Ad es: se il numero dei cromogeni aumenta, aumenta anche il
tere proteolitico (53–55) quindi si possono avere alterazioni diverse. L'idro-
no solforato e l'indolo sono il prodotto del metabolismo di poche specie bat-
riche (49–57–58–81–101–102) ed anche l'attitudine a ridurre l'ossido di tri-
etilammina non è costante (73–103), è però difficile stabilire il ruolo delle
gole specie ed individuare quale è la più dannosa.

Baird e Wood (104) hanno osservato che molti micrococchi non riducono
ssido di trimetilammina che invece viene ridotto dalla quasi totalità degli
tero-batteri (105). *Achromobacter* e *Pseudomonas* possiedono o meno questo
tere riduttore (18–106–107) ma possiedono una marcata attività proteoli-
a, la loro apparizione nel pesce alterato coincide con la proteolisi, il che con-
merebbe la teoria di Wood (54) sul succedersi delle diverse specie batteriche.
stell ed Anderson (108) in base agli odori che si sviluppano in colture pure
Achromobacter, *Proteus* e *Pseudomonas* affermano che queste specie inter-
gono nella alterazione profonda della carne di pesce. Recentemente Castell
collaborazione con Greenough (109) ritorna sull'argomento e dall'esame di
colture (15-20 specie) che producono i caratteristici odori del pesce in de-
posizione ha accertato che tutte le colture appartenevano al genere *Pseu-
monas*, il quale quindi può ritenersi responsabile di tutti gli odori che si svi-
ppano nel pesce in decomposizione tra 0° e 25°. I *Michrococcus* sarebbero
aticamente inoffensivi a parte le differenze di comportamento a seconda della
ecie e della temperatura di conservazione (110). Sembra però che i batteri
arini che maggiormente intervengono nei processi di alterazione appar-
ngono alla flora fecale della quale pertanto è necessario limitare più che pos-
le la diffusione.

Non molto numerose sono le osservazioni fatte sull'aumento della popola-
one batterica del pesce durante la conservazione. Bedford (111) ha riscontrato
lla pelle degli haddock freschi un numero di batteri dell'ordine di 10^2-10^3/g.,
opo 30-40 ore di conservazione a 25° si sale a 10^6/g. Fitzgerald e Conway
12) nel muco di pesce del mercato hanno trovato da 8,1 per 10^4 a 2,5 per 10^7
rmi/g. Fellers (71) nelle branchie di 138 salmoni del Pacifico conservati per
6 giorni tra 14,4 e 17,8° ha trovato da 3,7 per 10^2 a 2,4 per 10^8 germi/g;
llo stesso periodo e nelle stesse condizioni i conteggi per la carne del ventre
del dorso aumentarono rispettivamente da 0 a 9,3 per 10^5 ed a 4,4 per 10^5.
e il pesce viene raffreddato l'aumento della popolazione batterica è certamente
olto più lento, ma alla fine nel pesce deteriorato i valori sono dello stesso
rdine di grandezza. Stewart (59–60) e Shewan (113), ad Aberdeen nella Torry
esearch Station, hanno eseguito per 15 anni migliaia di conteggi sulla carne
haddock accuratamente eviscerati, lavati e conservati in ghiaccio fino a
5 giorni: la popolazione batterica che parte da 0 nel pesce fresco arriva a 10^6/g.
10 giorni, a 10^7/g. in 25 giorni per aumentare di poco successivamente, ma già
opo 15 giorni di conservazione il pesce era inaccettabile.

Nostre esperienze (114) sulle sardine dell'Adriatico ci hanno dato i seguenti
sultati: sardine fresche $0{,}27 \times 10^6$/g, dopo due giorni di conservazione in

ghiaccio a temperatura ambiente $1{,}30 \times 10^6$; dopo otto giorni 260×10^6. Le stesse sardine conservate in frigorifero dopo 18 giorni presentavano un numero di germi $5{,}6 \times 10^6$. Successive ricerche sui naselli (*Merluccius merluccius*) dell'Adriatico (115) conservati in ghiaccio a temperatura ambiente dopo tre giorni hanno dato un valore medio di $0{,}25 \times 10^6$ germi/g; dopo nove giorni $3{,}65 \times 10^6$ e dopo trentadue giorni 129×10^6.

Discordi sono i pareri sulle vie attraverso le quali i batteri penetrano nell'interno del pesce.

Anderson (116) ha osservato al microscopio che i batteri penetrano nel pesce attraverso il rene, ed introdotti nella corrente sanguigna, arrivano alla coda del pesce. La forte carica batterica superficiale in antitesi con la sterilità del muscolo fa pensare che le branchie ed il rene possono costituire una via di accesso attraverso il sistema vascolare, ma i batteri possono penetrare anche direttamente attraverso la pelle ed il rivestimento peritoneale, anzi, secondo Hildebrand (117), preferibilmente attraverso quest'ultimo. Beatty e Gibbons (118) dalla determinazione dell'attività biochimica conclusero che le principali vie di inquinamento del muscolo erano la parete peritoneale ed i vasi sanguigni, e che i batteri passavano anche attraverso la pelle. Wood (54) Kiser e Beckwitz (89) confermano questi risultati avendo riscontrato cariche batteriche più elevate nelle pareti ventrali che nel muscolo dorsale del maccarello.

Lucke e Frerks (119) determinando la distribuzione della carica batterica nel pesce conservato in ghiaccio riscontrarono il conteggio più alto immediatamente al disotto della pelle ed una progressiva diminuzione fino a raggiungere la spina dorsale per poi risalire senza però raggiungere l'alto livello sottocutaneo; questi risultati farebbero pensare che la pelle è facilmente permeabile ai batteri.

Dyer ed allievi (120–121–122–123) ritengono invece che la pelle ed il rivestimento peritoneale rappresentino una efficace barriera all'attacco batterico poichè hanno riscontrato che lo strato di muscolo sottocutaneo resta sterile perfino dopo dieci giorni mentre alla superficie si riscontrano fino a 24 milioni di germi per grammo; questi AA. ritengono che siano i prodotti del metabolismo batterico quelli che, diffondendosi rapidamente nel muscolo per un meccanismo di scambio osmotico, provocano l'alterazione della carne e la sua incommestibilità.

È difficile conciliare la lentissima penetrazione batterica osservata da Dyer ed allievi nel muscolo sottocutaneo con i precedenti risultati di Luke e Frerks, sembra però accettabile l'ipotesi della diffusione dei prodotti chimici dell'attività batterica dal luogo di produzione al muscolo.

Nei filetti di pesce, Wood (69) trova alla superficie una carica batterica di 10^9 batteri per grammo che scende a 10^7 alla profondità di cm. 0,5 ed a 10^4 alla profondità di cm. 2,5. Nel caso del pesce intero si è potuto osservare attraverso prelevamenti sistematici eseguiti in tutto il corpo, che le manifestazioni alterative compaiono con velocità decrescente andando dall'addome alla coda; nella regione addominale decresce andando dal peritoneo al centro della massa muscolare, nella regione mediana compaiono prima nel muscolo lungo la

onna vertebrale poi arrivano al muscolo ed infine alla regione sottocutanea; la coda l'alterazione procede quasi con lo stesso andamento nelle varie zone ıscolari.

Si può quindi concludere con il Soudan (129) che l'infezione batterica si ıita per un certo tempo alle superfici e poi si propaga partendo dalla cavità cerale per mezzo dei vasi sanguigni.

La breve esposizione fatta sulle modificazioni batteriche che avvengono rante l'alterazione del pesce ci consente alcune osservazioni di notevole im-rtanza:

1) le modificazioni batteriche costituiscono la causa determinante della ggior parte delle alterazioni che si verificano durante la conservazione l pesce;

2) la varietà della flora batterica, le diverse condizioni in cui detta ra svolge la sua attività biochimica ci dicono chiaramente quanti aspetti ltiformi e poliedrici possa assumere il quadro dell'alterazione del pesce;

3) è impossibile quindi orientare in una unica direzione la ricerca dei ggi obbiettivi per stabilire l'alterazione del pesce.

Alla luce di queste conclusioni esaminiamo le modificazioni che si verifi-ıo durante la conservazione nei costituenti del pesce.

Modificazioni chimiche

- I Glucidi.

Il pesce vivo contiene piccole quantità di glicogeno variabili secondo la ecie, gli individui ed il loro stato fisiologico (tab. n. 4).

Tabella N. 4

Tenore in glicogeno di differenti pesci (g. % gl.)

SPECIE	Secondo Mac Leod e Coll. (125)		SPECIE	Secondo Heifetz (126)
	muscolo	fegato		muscolo
tidi (*Myoxocephalus*)	0,14 – 0,39	4,45 – 7,26	Anguilla.....	0,002
rluzzo (*Eglefino*) (le za)	0,04 – 0,22	0,58 – 2,04	Carpa	0,032
rluzzo (*Eglefino*) (rete strascico)	0,00 – 0,10	—	Labride d'acqua dolce ..	0,002
ssera	0,27	0,34 – 2,50		
rluzzo giallo	0,01 – 0,14	0,51 – 0,96		
rluzzo bianco	0,01 – 0,06	0,21 – 0,90		

Subito dopo la morte il glicogeno sparisce per dare origine agli zuccheri riduttori ed all'acido lattico. Macpherson (127) in haddock presi dal mercato dopo 75 ore di permanenza sul ghiaccio trovò un quantitativo minimo di glicogeno che al massimo arriva allo 0,015 %. Sharp (128–129), Beatty e Collins (21), Tarr (130) hanno dimostrato che si tratta di una degradazione enzimatica simile a quella che si verifica negli animali a sangue caldo e che ha come prodotti intermedi gli stessi derivati fosforati. Questi composti sono sfuggiti per lungo tempo agli analizzatori perchè dopo la morte sono distrutti rapidamente (131–132). Il pesce pescato con le reti a strascico contiene meno glicogeno del pesce pescato con altri mezzi, specialmente di quello pescato con la lenza a mano, quest'ultimo infatti si mantiene fresco più a lungo perchè conserva una maggior quantità di acido lattico che consente al muscolo di mantenersi a un pH al disotto della neutralità, che ne ritarda l'alterazione (13).

La quantità di acido lattico presente nella carne di pesce è stata determinata da Macpherson (127) e da Sharp (129). Subito dopo la morte in haddock non debilitati fu trovato da 0,03 a 0,15 % di acido lattico, durante la conservazione Sharp ne trovò fino al 0,4-0,5 % in pesci con un contenuto iniziale di glicogeno relativamente alto. Macpherson negli stessi haddock in cui trovava al massimo 0,015 % di glicogeno poteva stabilire la presenza dal 0,10 al 0,25 % di acido lattico; è chiaro quindi che nel pesce i valori dell'acido lattico sono molto più bassi di quelli che si riscontrano nella carne dei mammiferi.

Contemporaneamente alla degradazione dei glucidi appare la rigidità cadaverica che raggiunge il suo massimo quando i processi di fosfogenolisi, glicogenolisi e la scissione del trifosfato di adenosina si sono completati (125–132–134).

L'evoluzione di questa fase ha grande influenza sulla conservazione del pesce a causa del ruolo che gioca l'acido lattico nelle prime reazioni di alterazione. L'acido lattico infatti è un prodotto di transizione della degradazione glucidica: per azione dei batteri subisce una ossidazione fino alla formazione di acido acetico ed anidride carbonica, contemporaneamente riduce l'ossido di trimetilammina a trimetilammina secondo lo schema seguente proposto da Watson (135):

$$CH_3 — CHOH — COOH + (CH_3)_3NO \rightarrow CH_3 — CO — COOH + (CH_3)_3N + H_2O$$

$$CH_3 — CO — COOH + (CH_3)_3NO + H_2O \rightarrow CH_3COOH + (CH_3)_3N + CO_2 + H_2O$$

Collins e coll. (21–136) confermano questa ipotesi pur riconoscendo che nel muscolo dei pesci i rapporti stechiometrici non sono perfettamente rispettati. L'acido acetico aumenta con il tempo fin dai primi giorni di conservazione (fig. 1), ma può provenire anche dalla degradazione dei lipidi.

Notevole interesse riveste anche il comportamento dei composti adenosinici che trattiamo insieme ai glucidi, poichè il loro prodotto di demolizione più interessante ai fini ispettivi è un pentosio e precisamente il ribosio. I composti di adenosina sono presenti in un certo numero di specie ittiche, ma

chi lavori sono stati fatti con questo gruppo di composti. Tarr (137–138) dimostrato una azione ribossidasica in alcune specie canadesi; Shewan e nes (139) in Scozia trovano indice di attività ribossisica molto più basso di ello riscontrato da Tarr in nerica, ed hanno rilevato e la scissione enzimatica l fosforo e dell'azoto orgaco dei nucleotidi adeninici luogo rapidamente durante primo periodo di conserzione secondo li seguente nema. Una parte dei protti intermedi sono stati serati ed isolati con l'uso della matografia a scambio io-co. Durante l'autolisi del uscolo del pesce il ribosio, sente in tracce nel muscolo sco, sale a 4-5 mg.% g., po 12 giorni, ed a 6-7 po 21 giorni.

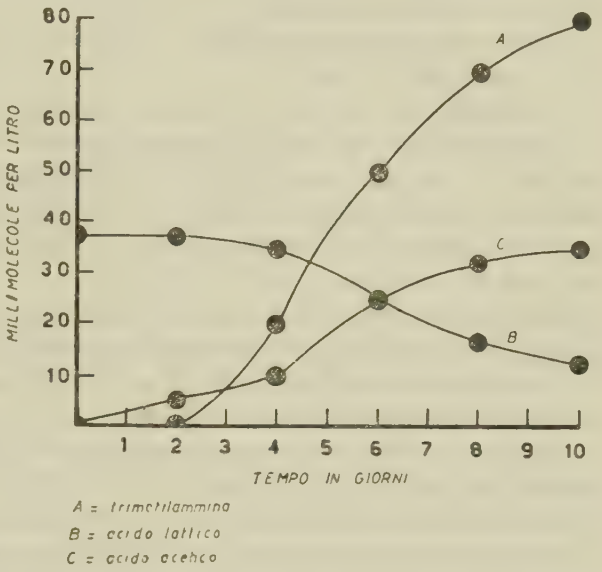


FIG. 1. — Variazioni dei tenori in acido lattico, acetico e trimetilamina nel succo di muscolo di merluzzo mantenuto a + 2° in presenza di aria (124).

Degradazione enzimatica del trifosfato di adenosina

TP ←	Adenosina trifosfato	$+ H_2O$, $- NH_3$	Inosina trifosfato	→ ITP
	$+ H_2O$, $- H_3PO_4$		$+ H_2O$, $- H_3PO_4$	
DP ←	Adenosina difosfato	$+ H_2O$, $- NH_3$	Inosina difosfato	→ IDP
	$+ H_2O$, $- HP_3O_4$		$+ H_2O$, $- H_3PO_4$	
IP ←	Adenosina monofosfato	$+ H_2O$, $- NH_3$	Inosina monofosfato	→ IMP
	$+ H_2O$, $- H_3PO_4$		$+ H_2O$, $- H_3PO_4$	
	Adenosina	$+ H_2O$, $- NH_3$	Inosina	
	(+ H_2O o H_3PO_4)		(+ H_2O o H_3PO_4)	
	ADENINA RIBOSIO		IPOXANTINA RIBOSIO	
	(o ribosio — 1 — fosfato)		(o ribosio — 1 — fosfato)	

– I LIPIDI.

I pesci contengono quantità di grasso molto diverse da specie a specie: ti nella pratica corrente distinguiamo i pesci grassi dai pesci magri. Le ta-

vole di composizione degli alimenti editi dalla FAO per uso internazionale (Roma dicembre 1954) distinguono tre gruppi di pesci:

a) pesci ricchi in grasso con un contenuto in lipidi del 10 % nei filetti, del 5 % nel pesce intero;

b) pesci magri (merluzzo e specie affini) col 0,5 % di lipidi nei filetti, 0,2 % nel pesce in toto;

c) altri pesci: 2,5 % di lipidi nei filetti, 1,1 % nel pesce intero.

Ma sappiamo altresì che in una stessa specie il contenuto in grasso varia con l'epoca e la località della pesca, con la lunghezza ed il peso dell'esemplare, con il sesso e la maturazione delle gonadi (140), con le stagioni (141) (142) ed, in uno stesso pesce, esistono differenze, tra la parte di testa e di coda dei filetti, che possono arrivare al 16 % (142-*bis*).

I lipidi contenuti nei pesci subiscono processi di idrolisi con formazione di acidi grassi liberi e possono irrancidire per azioni enzimatiche e microbiologiche.

Gli acidi grassi una volta liberati subiscono poi processi di demolizione fino alla formazione di acidi volatili.

Hilling e coll. (143) hanno isolato in corrente di vapore dalle aringhe, dalle sardine, dal maccarello, dal salmone e dal tonno, acidi volatili da 1 a 4 atomi di carbonio, che aumentano durante l'alterazione, e che, pur variando da specie a specie, sono in una stessa specie abbastanza costanti. Hilling e Clark (144) hanno trovate piccole quantità di acidi grassi volatili, principalmente formico ed acetico, nel pesce in scatola anche se preparato con materiale freschissimo.

Suzuki (145) ha confermato che la quantità di acidi organici presenti nella carne di carpa o di altri pesci ha valore indicativo per la valutazione del grado di freschezza e che con il progredire dell'alterazione oltre all'acido formico e acetico si formano anche l'acido butirrico ed isovalerianico.

Pure Higasi e coll. (146) esaminando i prodotti di decomposizione del pesce hanno messo in evidenza la formazione di acidi volatili con peso molecolare medio 82 e precisamente acido acetico, propionico, butirrico e valerianico, che si formano nei processi di autolisi come metaboliti batterici degli ammino acidi e di altri acidi.

L'ossidazione dei lipidi del pesce è causa di una notevole alterazione della qualità in numerosi prodotti della pesca. L'ossidazione degli olii e dei pigmenti associati provoca nel pesce l'irrancidimento ed un cambiamento di colore (147). I pigmenti del sangue sono importanti catalizzatori nell'ossidazione dei lipidi nei tessuti del pesce, ed infatti nei tessuti contenenti pigmenti a base di ematina l'olio si ossida più rapidamente. Nel pesce sono anche contenute lipossidasi (48) la cui attività aumenta in presenza di cloruro di sodio.

Nei pesci grassi i lipidi possono irrancidire con la formazione di perossidi (149), e nel salmone l'indice di perossido può passare da 0,40 a 0,95 tra il 7° ed il 15° giorno di conservazione a 0° (150) e questa alterazione riveste notevole importanza quanto sia inibito lo sviluppo dei batteri proteolitici come nel caso del pesce congelato.

Pertanto lo studio dei lipidi ha portato un notevole contributo alla conoscenza dei fenomeni alterativi nei pesci grassi.

I – Sostanze azotate.

Nel muscolo dei pesci i composti azotati rappresentano la frazione quantativamente più importante, qualitativamente varia in funzione di un gran mero di fattori ma in tutti i casi possiamo distinguere sempre una parte proca ed una non proteica (151–121).

Durante l'alterazione la parte non proteica aumenta a causa della formane di prodotti di degradazione delle proteine e l'aumento diventa notevole po la conservazione di 4-6 giorni a 6° (25–152–153).

La frazione di azoto non proteico (azoto solubile) presenta una composine molto complessa ed è senza dubbio, sede di notevoli modificazioni durante lterazione del pesce.

Esaminiamo brevemente il comportamento dei principali componenti della zione di azoto solubile. Una delle caratteristiche più notevoli del pesce di re è il suo contenuto in ossido di trimetilammina (TMAO). La letteratura questo argomento è stata esaminata dal punto di vista qualitativo in una rassna di Kutscher ed Achermann (154). Ricerche quantitative sono state fatte da k (155), Beatty (156), Reay (157), Norris e Benoit (158), Renold e Jakobsen 9), Dyer (160), Reay e Shewan (34), Notevarp e coll. (161) e più recentemente cora da Dyer (162), Venkataraman Chari (162-*bis*) e da Hughes (163).

Reay, Cutting e Shewan (24) riassumono come segue i risultati ottenuti la determinazione dell'ossido di trimetilammina nelle diverse specie acquahe: elasmobranchi da 1000 a 1500 mg. di TMAO % g. di muscolo, teleostei rini da 120 a 980 mg. % g. di muscolo con valori più probabili compresi 200 e 400 mg.; tra i teleostei i gadidi sono più ricchi di TMAO dei pleuronettidi.

Venkataraman R. e Chari S. T. (162-*bis*) riferiscono sul contenuto in MAO di 21 specie di pesci delle acque del Malabar (India): lo squalo e la razza asmobranchi) presentano un elevato tenore in TMAO 160-245 mg. % g. di sce fresco, i teleostei da 17,8 a 80,3 mg. % g., tra i teleostei sono state risconte importanti differenze, ma specie simili hanno all'incirca lo stesso tenore TMAO.

Secondo Ronold e Jacobsen (159) esistono anche variazioni stagionali nel ntenuto di TMAO. Anche Hughes (163) dimostra l'esistenza di variazioni gionali per le aringhe, con valori più elevati in inverno rispetto all'estate, Dyer (162) ritiene che queste variazioni siano da mettere in relazione con grandezza e l'età del pesce. Dyer nel suo lavoro più recente (162) oltre riferire isultati ottenuti dai precedenti sperimentatori, riporta un gran numero di erminazioni da lui eseguite su pesci ed invertebrati marini dell'Atlantico el Pacifico, e perviene alle seguenti considerazioni conclusive: gli Artropodi, cialmente copepodi e decapodi, contengono notevoli quantità di TMAO, ragosta (*Homarus americanus*) contiene 125 mg. di N in 100 g. di muscolo to forma di TMAO (anche in seguito il contenuto in TMAO sarà espresso ne azoto) valore concordante con quello trovato da Reay (157) nel *Nephrops vegicus*: 122 mg. di N % g. I molluschi gasteropodi e lamellibranchi, specialnte i pettini, le cozze e le ostriche, non contengono TMAO; viceversa i cefa-

lopodi (polpo e calamaro) ne contengono notevole quantità (110–150 mg. % g
Gli elasmobranchi hanno un contenuto molto elevato in TMAO: nelle razz
il contenuto varia da 70 a 240 mg. % g. Nei teleostei i valori sono molto varia
bili, gli ordini inferiori (plectospondili, apodi, isospondili, eteromi, aplom
embranchi) hanno un basso contenuto di TMAO, i clupeidi ne contengon
circa mg. 40, le aringhe possono arrivare 75, i salmonidi sono molto scarsi
così pure l'*Osmerus mordax* e la costardella (*Scomberesox saurus*) che si man
tengono al disotto di mg. 25. Tra gli Acantotteri: maccarello, tonno, e pesc
spada ne contengono basse percentuali (40 mg. % g.), mentre la *Seriola dume
rilii*, il *Polinurichthys perciformis*, il *Poronotus triacanthus* ed il *Roccus saxatili*
arrivano in media a 60 mg. % g. I gadidi contengono, tra i teleostei, le più ele
vate quantità di TMAO raggiungendo una media di mg. 88: i pleuronettid
valori più bassi dei gadidi, in media 65 mg. % g.

Secondo Dyer il contenuto in TMAO della stessa specie di pesci o di pesc
affini, catturati nelle diverse parti del mondo, differisce di poco e porta gli esemp
dell'halibut la cui specie atlantica (*Hippoglossus hippoglossus*) fornisce un va
lore medio di mg. 70, mentre quella del Pacifico (*H. stenolepis*) ne contiene 65
il merluzzo atlantico (*Gadus callarias*) raggiunge una media di 65 mg., mentr
Reay (157) in Inghilterra trova valori tra mg. 67 e 75 e Ronold e Jakobse
(159) in Norvegia tra 50 e 92. Per le aringhe Dyer (162) trova in quelle atlan
tiche un valore di mg. 74, mentre Ronold e Jakobsen raggiunsero solo il valor
di mg. 36, valore questo confermato dalle recenti ricerche di Hughes (163)

Nel Laboratorio Chimico Provinciale di Pescara uno di noi in collaboration
con la dottoressa Simongini ha determinato il contenuto in TMA (trimetila
mina) e TMAO di molti pesci dell'Adriatico allo stato di massima freschezza
I risultati che saranno comunicati durante il prossimo Congresso delle Scienz
Veterinarie sono raccolti nella tabella n. 5 (164).

Per riduzione dell'ossido di TMA si forma la TMAO, la cui presenza ne
pesce è stata accertata nel 1909 da Suwa (165). Questa riduzione è dovuta ad
un certo numero di specie batteriche che la compiono per azione della loro tria
minoossidasi (166), Watson (135), come già abbiamo visto, ha proposto il se
guente schema per il decorso del muscolo di pesce della reazione che porta alla
formazione di trimetillammina:

$$CH_3 - CHOH - COOH + (CH_3)_3NO \rightarrow CH_3 - COOH + (CH_3)_3N + CO$$

o in modo più generale:

$$AH_2 \text{ (donatore di idrogeno)} + (CH_3)_3NO \rightarrow A \text{ (substrato ossidato)} + (CH_3)_3N + H_2O$$

Il ruolo di donatore di idrogeno può essere ricoperto dal glucosio, dal gli
cogeno, dal lattato o dal piruvato, ed, a seconda del substrato, varia la velocità
di riduzione (18).

Sigurdson (167) determina gli acidi grassi volatili e la TMA in aringhe con
servate tra —2° e + 27°, fino alla scomparsa del TMAO ed osserva che gli acidi
volatili e la TMA si formano in quantità tali da trovarsi in buon accordo con
lo schema su esposto.

TABELLA N. 5

Contenuto in ossido di trimetilammina dei pesci dell'Adriatico

SPECIE ANALIZZATA	NUMERO ESEMPLARI ESAMINATI	TMA PREFORMATA	TMAO
		mg. di N % g. di pesce	
TELEOSTEI			
GADIDAE			
·luzzo (*Merluccius merluccius*)	6	0,267– 0,302	58,50– 60,65
hialone (*Micromesistius poutassou*)	4	0,506– 0,624	136,20–137,50
SCOMBRIDAE			
mbro (*Scomber scombrus*)	3	0,206– 0,881	27,50– 28,81
CLUPEIFORMES			
iuga (*Engraulis encrasicholus*)	8	1,252– 1,743	10,80– 11,75
ppia (*Clupea alosa*)	3	0,388– 0,437	20,88– 21,56
MUGILIDAE			
alo (*Mugil cephalus*)	1	0,362	6,51
MULLIDAE			
glia (*Mullus barbatus*)	6	0,200– 0,285	37,61– 43,16
TRIGLIDAE			
zzolino (*Trigla corax*)	1	0,681	69,00
SPARIDAE			
a (*Box boops*)	8	0,281– 0,625	32,20– 50,01
ello (*Pagellus erithrynus*)	3	0,300– 0,382	48,18– 50,16
mora (*Pagellus mormyrus*)	4	0,280– 0,334	47,30– 49,69
SCOMBEROSOCIDAE			
iglia (*Belone belone*)	1	0,425	39,57
OPHIDIDAE			
lletto (*Ophidion barbatum*)	1	0,437	69,88
PLEURONECTIFORMES			
mbo (*Rhombus maximus*)	1	2,187	62,81
liola (*Solea solea*)	4	0,0 – 0,167	39,80– 40,65
nchettone (*Eucitharus linguatula*)	1	1,125	84,20
SCORPENIDAE			
rfano (*Scorpaena porcus*)	6	0,0 – 0,167	109,12–126,87
TRACHINIDAE			
ce Ragno (*Trachinus draco*)	4	0,190– 0,240	78,70– 80,25
cerna (*Uranoscopus scaber*)	2	0,432– 0,490	79,78– 80,90
ELASMOBRANCHI			
zza (*Raja clavata*)	4	0,124– 0,212	87,28– 98,63
CROSTACEI			
MACRURI			
mpo (*Nephrops norvegicus*)	3	19,300–20,370	112,10–119,32
STOMATOPODI			
nocchia (*Squilla mantis*)	5	4,810– 5,000	94,56–101,25
MOLLUSCHI			
CEFALOPODI			
amaro (*Loligo vulgaris*)	6	1,125– 1,437	122,31–134,80
ppia (*Sepia officinalis*)	4	1,662– 1,675	145,82–147,50

La formazione di TMA nel pesce è ritardata da un abbassamento del pH a pH = 5,0, in certi casi, la quantità di TMA trovata è praticamente nulla anche quando i batteri superano 10^8 per ml. (168). La TMA preformata si trova in tracce nel pesce vivo in relazione con il TMAO (169) ed il suo tenore in 100 ml. di succo muscolare provenienti da pesci diversi è mg. 0,06-0,03 (170–164).

Non tutti i batteri riducono l'ossido di TMA a TMA e perciò lo sviluppo della TMA (94–135) è legato non tanto al numero totale dei batteri quanto alla frazione presente di anaerobi facoltativi.

L'origine batterica della TMA è stata dimostrata dalla correlazione tra il conteggio batterico e la quantità di TMA accertata da diversi AA. (171–172) in determinazioni condotte in parallelo su molti pesci.

Nikkila (173) ha studiato lo sviluppo della TMA nelle aringhe del Baltico (*Clupea harengus*). La formazione di TMA comincia contemporaneamente a quella dell'ammoniaca e rimane parallela per un breve periodo. Dopo circa otto giorni di conservazione a 0° e 4 giorni a 18° il contenuto in ammoniaca aumenta ancora, mentre quello di TMA prima diminuisce poi raggiunge un massimo e ridiscende a zero. Apparentemente nella decomposizione avanzata la formazione di TMA si arresta, oppure il composto viene demolito o essendo volatile evapora. Questi risultati sono molto originali, ma l'autore ci fa osservare che si tratta di aringhe che vivono in acque poco salate (Baltico) e che quindi, come i pesci di acqua dolce, non contengono TMAO e la TMA deve provenire da altre fonti.

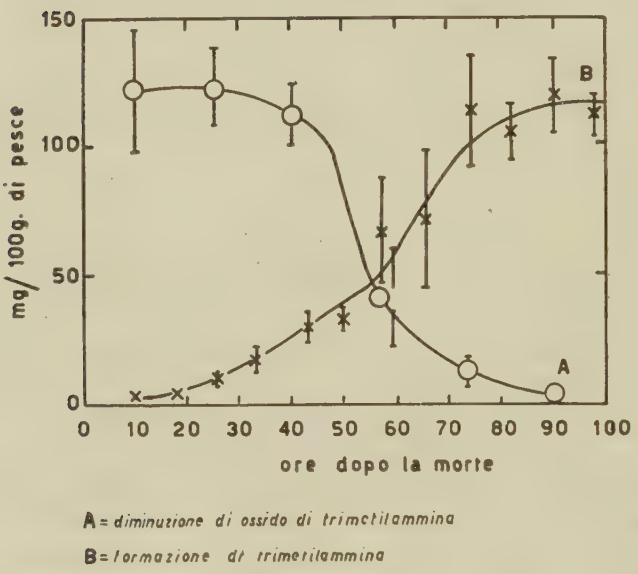


FIG. 2 (Hughes 198).

Ma per la trimetilammina si possono prevedere, almeno accessoriamente, precursori diversi dall'ossido di TMA. La colina, per quanto presente in piccola quantità nel muscolo, può dare trimetilammina, invece la creatina e la creatinina non sono suscettibili di una simile degradazione (174–175). Inoltre determinazioni contemporanee di trimetilammina e del suo ossido nel muscolo e nel succo di muscolo, durante le varie fasi di alterazione nel pesce, hanno dimostrato che la somma dei due composti si mantiene costante. Solo ad uno stadio avanzato di alterazione la quantità di trimetilammina formata non corrisponde all'ossido ridotto, il che indica l'esistenza di un insieme di reazioni

ù complesse (176–177–178). I risultati di queste determinazioni sono raccolte ella tabella 6 e nella figura 2.

Insieme alla TMA Reay e Shewan hanno isolato quantità variabili se- ondo la specie di mono- e di metilammina (178–179–180). L'ampiezza della scillazione durante la conservazione del pesce è sufficiente per la sua deter-

TABELLA N. 6

enore in trimetilammina e ossido di trimetilammina nel merluzzo conservato a diverse temperature

DURATA	SECONDO BEATTY (165)						SECONDO SHEWAN (175)			
	Succo						Succo		Muscolo	
	21° C		10° C		0,5° C		0° C		0° C	
	TMA	TMA + TMAO	TMA	TMA + TMAO	TMA	TMA + TMAO	TMA	TMA + TMAO	TMA	TMA + TMAO
0– 6 ore	0 – 2,4	139	—	140	—	109	—	—	—	—
2 ore	10	139	4,8	140	—	109	—	—	—	—
4 ore	93	138	36	141	2,4	109	—	—	—	—
6 ore	132	138	81,5	141,5	—	—	—	—	—	—
8 ore	—	—	105,5	142	8	111	0,69	61,6	0,4	66,2
6– 7 giorni	—	—	—	—	84 – 98	112	2,16	63,2	1,0	51,2
0–12 giorni	—	—	—	—	113	115	27 – 60	60	2,4 – 9,0	55 – 54
5–17 giorni	—	—	—	—	—	—	60,4	60,4	11,2	43,2

inazione, specialmente nel caso della dimetilammina (172). Come risulta dalla abella 7 la dimetilammina aumenta secondo una curva che ha lo stesso anda- ento di quella della trimetilammina, ma secondo Shewan (181), l'aumento verifica in anticipo rispetto alla trimetilammina ed è in più stretta relazione on il contenuto batterico.

Oltre le ammine della carne di pesce vi sono anche gli ammino acidi liberi ne, secondo alcuni AA., diminuiscono nelle prime fasi dell'alterazione bat- rica, ma con l'incrementarsi dell'idrolisi proteica si osserva un aumento del- azoto amminico. Però l'idrolisi delle proteine rappresenta uno stadio di avan- ata putrefazione e secondo Tarr (23) si osserva solo quando il pesce è incom- estibile. Anche Beatty e coll. (182–183) ritengono che la proteolisi si manifesti opo parecchi giorni di conservazione e pertanto gli ammino acidi, che au- entano leggermente nei primi giorni, rimangono poi all'incirca costanti per arecchi giorni, questi risultati confermano quelli precedenti di Brocklesby Riddel (184).

Tabella N. 7

Tenore in ammine secondarie e terziarie e numero dei batteri del muscolo di pesce conservato in ghiaccio

DURATA (giorni)	Eglefino			Cane di mare			Perca (acqua dolce)		
	DMA mg % g	TMA mg % g	Log. N. batt./g	DMA mg % g	TMA mg % g	Log. N. batt./g	DMA mg % g	TMA mg % g	Log. N. batt./g
0	0,08	0,56	3,23	0,07	0,5	3,74	tracce	0,25	2,48
3	0,25	0,99	3,62	0,07	0,7	4,63	—	—	3,53
6	0,55	1,26	4,22	0,08	0,8	4,43	—	—	5,16
9–10	1,25	3,39	5,33	0,06	1,3	5,73	—	—	6,64
16	1,84	17,07	6,38	0,16	14,1	5,63	—	—	9,21

Inoltre è molto difficile distinguere la proteolisi autolitica da quella batterica. Reay e Shewan (34) stabiliscono l'inizio della proteolisi batterica ed il suo successivo decorso attraverso la determinazione dell'ammoniaca, mentre Bradley e Bayley (185) hanno proposto l'indice di tirosina. Anche secondo Beatty e coll. (21–182–186) l'ammoniaca è in gran parte prodotta dal metabolismo batterico, mentre quella prodotta per azione enzimatica è trascurabile.

In questi ultimi anni sono stati pubblicati molti lavori sugli ammino acidi presenti nel muscolo dei pesci, i quali, insieme con le sostanze estrattive e volatili, rivestono notevole importanza nella determinazione del sapore. Inoltre gli ammino acidi, combinandosi con gli zuccheri liberi, ed anche attraverso altre reazioni, sono i principali fattori delle modificazioni di colore che la carne del pesce subisce durante i trattamenti tecnologici ai quali viene sottoposta (disidratazione, salagione, inscatolamento, ecc.).

Jones (187) ha determinato per un periodo di tre anni, gli ammino acidi nel muscolo della sogliola limone (*Pleuronectes microcephalus*) per cromatografia bidimensionale su carta ed ha riscontrato la presenza dei seguenti ammino acidi: alfa- e beta- alanina, glicina, acido glutammico, leucina e lisina, ed, in concentrazione molto elevate, la taurina.

La concentrazione di alcuni ammino acidi varia notevolmente nei diversi periodi dell'anno, e più precisamente:

Alfa-alanina: non presenta variazioni stagionali, i valori riscontrati vanno da 6 a 80 mg. % g. di muscolo di pesce;

Beta-alanina: non sempre reperibile, il suo tenore può arrivare fino a 22 mg. % g. di muscolo;

Acido glutammico: presenta notevoli variazioni stagionali, da un massimo in febbraio-marzo (34 mg. % g. di muscolo) si scende al minimo in settembre (2 mg. % g. di muscolo);

Glicina: ha un andamento stagionale simile a quello dell'acido glutammico e le concentrazioni vanno da 7 a 185 mg. % g. di muscolo;

Leucina: come la beta-alanina non fu sempre reperibile, non presenta ariazioni stagionali, valore massimo riscontrato 7 mg. % g. di muscolo;

Lisina: anche questo ammino acido non fu riscontrato costantemente, a il tenore può ascendere a valori notevoli come 47,8 e 26,4 mg. % g. di muscolo;

Taurina: è il maggior costituente della frazione ammino acidi, le concen- azioni variano stagionalmente, ma con massimi in luglio-settembre e minimi marzo-aprile, ed oscillano tra 202 e 408 mg. % g. di tessuto.

Boge (188) ha determinato la composizione in ammino acidi dell'aringa valendosi del metodo microbiologico e successiva titolazione dell'acido lat- co prodotto dopo incubazione per 72 ore; i risultati sono i seguenti, espressi g. di ammino acidi per 100 g. di proteina grezza: alanina 7,14; istidina 1,87; oleucina 6,20; leucina 7,14; lisina 8,34; metionina 2,56; fenilalanina 3,57 eonina 4,10; triptofano 0,78; valina 5,38; tirosina 3,00; cistina 1,40; glicina 51; alanina 7,64; acido aspartico 9,42; acido glutammico 11,44; prolina 23; serina 4,10.

Già in precedenza Bini (92) aveva determinato i valori quantitativi dei versi gruppi azotati delle proteine del tessuto muscolare di alcuni pesci, appli- ndo il metodo descritto da Van Slike (265) per la determinazione dei gruppi imici caratteristici dei diversi ammino acidi.

In esperienze condotte su *Dentex filosus e Mullus barbatus* Bini ha otte- uto i seguenti risultati espressi in % dell'azoto totale, da essi emerge l'ele- ato valore della frazione istidinica:

	Dentex filosus	*Mullus barbatus*
Azoto ammidico	9,45	12,03
Azoto uminico	2,19	2,52
Arginina	8,18	9,44
Lisina	4,06	7,45
Istidina	22,41	15,85
Azoto non amminico nel filtrato	6,75	9,80
Azoto amminico nel filtrato	42,02	42,68

Bramstedt (189) con la cromatografia su carta ha rilevato nel muscolo di esce 10 composti a basso peso molecolare, identificati per la maggior parte me ammino acidi liberi. L'elevato tenore in ammino acidi liberi della carne pesce (0,3-0,5 %) è forse la causa della putrefazione batterica relativamente pida della carne di pesce paragonata alla carne degli organismi a sangue caldo. ssume grande importanza la accertata presenza della beta-alanina, che non trova allo stato libero negli organismi viventi, ed il suo aumento durante conservazione. Sembra che la beta-alanina si formi in 2-5 giorni a tempera-

TABELLA N. 8

Contenuto in composti imidazolici del muscolo di pesce

Lukton e Olcott (190)

SPECIE	ISTIDINA micromole /g	CARNOSINA micromole /g	ANSERINA micromole /g	N non PROTEICO mg/g	N IMIDAZOLICO % N non proteico
Tonno (*Neothunnus albacora*):					
carne bianca	35,5	0,3	29,9	5,0	63
carne bianca	47,4	0	30,7	6,2	60
carne bianca	26,2	0,1	25,5	10,2	26
carne scura	13,7	2,3	9,3	4,4	28
Tonnetto (*Katsuwonus pelamis*):					
carne bianca	76,8	1,9	24,5	—	—
carne scura	11,1	2,6	1,3	3,7	19
carne bianca	57,3	8,0	5,2	7,4	43
Maccarello (*Pneumatophorus japonicus colias*)	38,7	0,2	0,7	3,7	45
Maccarello (*Pneumatophorus japonicus colias*)	33,5	0,6	0,2	4,2	35
Pesce spada (*Xiphias gladius*)	0,2	0,5	15,5	2,4	38
Sardina (*Sardinops caerulea*)	49,2	0,1	0,3	4,8	44
Salmone reale (*Oncorhyncus tshawytscha*)	1,4	0,8	11,6	2,9	29
Salmone reale (*Oncorhyncus tshawytscha*)	2,4	1,2	19,9	3,0	43
Salmone reale (*Oncorhyncus tshawytscha*)	1,6	0	17,5	4,9	22
Cheppia (*Alosa sapidissima*)	7,3	0,3	0	2,2	15
Merluzzo bianco (*Gadus morrhua*)	0,2	0,2	5,2	2,8	13
Scorfano (*Sebastes dactyloptera*)	0,3	0	0	2,9	0,4
Scorfano (*Sebastes dactyloptera*)	0,6	0,2	0	2,4	1,1
Sogliola (*Solea vulgaris*)	0,8	0,3	0,3	3,1	2,0
Razza (*Raja marginata*)	0	0,3	0	12,5	0,2
Pesci d'acqua dolce:					
Trota (*Salmo gairdnerii*)	2,5	2,1	0,4	3,8	16
Carpa (*Cyprinus carpio*)	3,9	0,1	0	3,5	5
Perca (*Perca flavescens*)	3	0,4	0,7	2,7	7

ura di conservazione di 2° soprattutto per decarbossilazione dell'acido aspar-
ico. Inoltre durante i primi giorni di conservazione si producono modificazioni
el tenore in leucina, isoleucina e valina. Poichè i prodotti di decarbossilazione
ella lisina (piperidina, N-amino-piperidina, aldeide delta-ammino-valerianica)
rendono una parte essenziale alla formazione dell'odore spiacevole del pesce,
'azione della carbossilasi in questo processo deve essere oggetto di ricerche
nche allo scopo di accertare i mezzi per impedirla.

Un'altro gruppo importante di componenti della frazione di azoto non
roteico è rappresentata dai composti imidazolici (carnosina, anserina, isti-
ina, e metil-istidina) che a volte (tonni) raggiungono l'1 % del tessuto umido.

Lutkon e Olcott (190) hanno recentemente eseguito accurate ricerche sulla
istribuzione di questi composti negli animali acquatici a conferma delle pre-
edenti ricerche di Yudaev (191) e Shewan (192–193–194–195). Sutkon ed Ol-
ott usano il metodo dello scambio ionico sviluppato da Davey (196) che rende
ossibili queste determinazioni che precedentemente erano molto laboriose e
limitata precisione. Alcuni dei loro risultati sono raccolti nella tabella 8.

In generale i pesci appartenenti alla famiglia dei tonni presentano il più
lto contenuto in composti imidazolici (anserina ed istidina approssimativa-
ente in parti eguali). Il muscolo bianco ha un contenuto di imidazolo più
levato del muscolo rosso. Altri pesci contengono prevalentemente anserina
salmone, pesce spada) o istidina (maccarello, sardina, ecc.). La carnosina è
composto imidazolico più importante delle balene. La metilistidina risultò
ssente nella maggior parte dei casi e si ritiene che la sua presenza sia un pro-
otto dell'attività anserinasica.

Durante la conservazione del merluzzo in ghiaccio si osserva un notevole
umento degli ammino acidi liberi (197). Secondo Hughes (198) nell'aringa,
urante la putrefazione, leucina, valina, alanina, glicina, ed acido glutammico
umentano con discreta velocità, mentre la lisina diminuisce, e così pure la
erina, sebbene in misura minore. Inoltre durante la putrefazione compaiono
ltri ammino acidi: dopo 40 ore di conservazione si riscontrò la presenza di
cido aspartico e di tirosina, il cui contenuto aumentava progressivamente,
opo 58 ore comparve e continuò successivamente a salire l'arginina, e contem-
oraneamente si accertò la presenza di un secondo ammino acido identificabile
ella metionina. Hughes ritiene però che le variazioni degli ammino acidi durante
a putrefazione differiscono notevolmente da un esperimento all'altro a seconda
ella flora batterica la quale dipende dalla specie ittica e dalle modalità della
onservazione.

La metil-istidina e la beta-alanina aumentano fin dai primi giorni di con-
ervazione prima che si instauri l'invasione batterica dei tessuti, il che sta ad
ndicare la scissione del dipeptide anserina ad opera di un enzima muscolare,
ermolabile, l'anserinasi, che è stato isolato dagli estratti di muscolo (197).

Secondo Kimata e coll. (199) nella carne di pesce l'azoto ammoniacale,
azoto amminico e l'istidina aumentano con il progredire della decomposizione,
istamina si produce in un secondo tempo per decarbossilazione batterica
ell'istidina (200).

Anche secondo Hughes (198) nell'aringa il contenuto di istidina aumenta nel primo periodo di conservazione, poi diminuisce e dopo 98 ore è completamente scomparsa; Shimizu e coll. (201) osservano lo stesso comportamento nel macarello. Un andamento diverso presenta invece l'istamina, assente fino a 40-50 ore dopo la morte, sale successivamente a 30-40 mg. % di muscolo (vedi fig. 3).

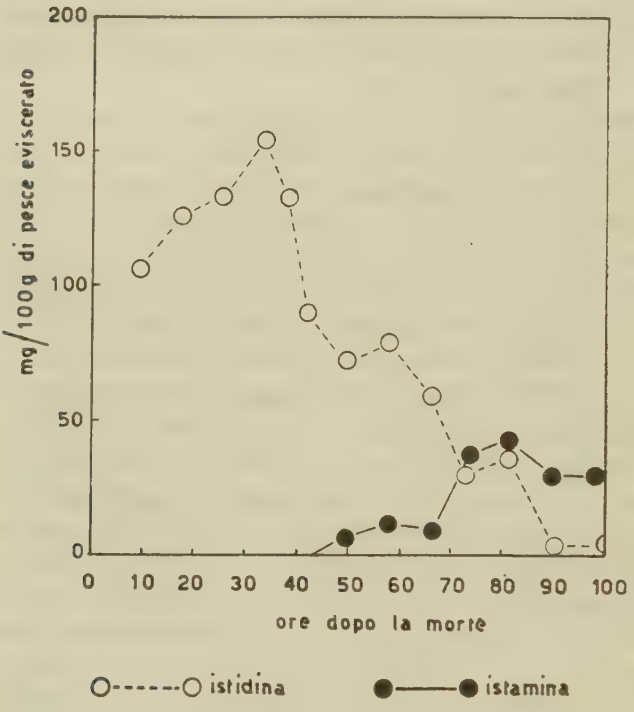


FIG. 3 (Hughes 163).

Igarashi (202) ritiene che il sapore della carne di pesce sia dato dall'istamina prodotta per decarbossilazione enzimatica e non batterica, dell'istidina, mentre Shimizu e coll. (203) sostengono che la presenza di istamina negli estratti sia dovuta principalmente ad azione batterica. Gli stessi AA. unitamente a Kimata e Kawai (204) constatarono l'esistenza della decarbossilasi istidinica nel muscolo del pesce fresco, ma mentre i primi ritengono che inizialmente l'optimum del pH sia 7,5, i secondi ritengono che sia molto più acido (3,5-4,5).

Recentemente Kawabata (205) ha accertato l'esistenza di una nuova sostanza simile all'istamina, ma molto più attiva: la saurina, sulla quale sono in corso ricerche circa la struttura ed il metabolismo.

Se gli ammino acidi della prima fase della deteriorazione sono convertiti in ammine per opera delle decarbossilasi batteriche in ambiente acido, in ambiente alcalino, può aversi anche la deaminazione dell'ammino acido. E poichè in un secondo tempo anche le ammine si decompongono, sia pure con meccanismo diverso secondo il tipo dell'ammina, si arriva alla formazione della ammoniaca secondo il seguente schema, che può variare da caso a caso specialmente in funzione del pH:

$$\begin{array}{l} \text{deaminasi dell'ammino acido} \\ R.\,CH_2 - CH(NH_2) - COOH \longrightarrow R.CH_2 - COOH + NH_3 \\ \quad\downarrow \quad\leftarrow \text{Decarbossilasi dell'amino acido} \\ R.CH_2 - CH_2 - NH_2 \xrightarrow{\text{ossidasi dell'amina}} R.CH_2 - COOH + NH_3 \end{array}$$

In condizioni normali il tenore in azoto ammoniacale del muscolo di pesce inizialmente dell'ordine di 10 mg. % g., descresce poi leggermente (21–179) rse a causa dell'utilizzazione batterica dell'ammoniaca (206), quando la proolisi diviene attiva l'ammoniaca aumenta rapidamente secondo una curva e decorre di pari passo con lo sviluppo batterico.

Modificazioni chimico fisiche

Il complesso delle modificazioni chimiche che avvengono nei diversi cotituenti del pesce e che abbiamo precedentemente descritto si traduce naturlmente in una variazione del pH e del potere tampone. Perciò nella ricerca un metodo pratico e rapido di determinazione dello stato di freschezza i pesce è logico che molti AA. si siano orientati verso la determinazione i pH.

La letteratura su questo argomento è molto vasta e diverse sono le modiazioni del pH riscontrate nel pesce durante la conservazione. Innanzitutto corre precisare che il pH del pesce varia secondo la specie pur aggirandosi torno ad un pH neutro: Cutting (207) ha stabilito il valore del pH di diverse ecie di pesce fresco ed ha trovato: Gadidi 6,3-7,0; Pleuronettidi 6,4-6,6; Arine 6,1-6,4; Pesci d'acqua dolce 6,9-7,3.

Dyer (208) riferisce i seguenti valori: Platessa 6,7-7,0; Merlango 6,9-7,3; erluzzo 6,5-7,1. Esistono anche oscillazioni individuali.

Secondo Yamamoto e Sonehara (210) il pH della carne di pesce è 6,85 r il pesce bianco e 6,5 per il pesce a muscolo rosso con variazioni dovute alla agione ed alla specie.

Dopo la morte il pH diminuisce per effetto dell'acido lattico poi ritorna valore primitivo e aumenta con il formarsi delle basi volatili (120–211). condo Dyer e coll. (120–121–122–123) il pH superficiale nel filetto dei pesci fferisce dal pH del campione medio del muscolo, e la differenza tra il pH surficiale dei filetti e quello profondo può permettere di stabilire, in una specie ecedentemente studiata, il grado di freschezza del pesce (212). Kawabata e ll. (213) hanno riscontrato differenze nel valore del pH nei diversi muscoli ll'albacora ed hanno dimostrato che queste variazioni sono in relazione piutsto con la quantità di acido lattico che con quelle delle basi volatili, mentre condo Collins (214) il pH iniziale del muscolo di pesce dipende dalla quantità glicogeno e dal potere tampone.

Cutting (207) ha osservato che dopo il rigor-mortis il pH si abbassa in mira diversa secondo le varie specie di pesce: nel merluzzo entro 3 ore dalla rte discende da 7,2 a 6,05; nel merlango da 7,06 a 6,30; nella sogliola da 6,08 5,90; invece nel pesce stantio il pH sale anche fino a 7,5-8,0.

Poloektoff (215) e Yamamura (216) ritengono che l'alterazione del pesce può rtare a variazioni sia nel senso acido che nel senso alcalino, mentre Hyorthnsen (217) in accordo col Cutting (212) trova un netto abbassamento del I dopo la morte del pesce.

TABELLA N. 9

Il pH dei principali prodotti della pesca del medio Adriatico

Numero	SPECIE ANALIZZATA		NUMERO ESEMPLARI	VALORE		
				minimo	massimo	medio
1	*Solea solea*	Sogliola	2	5,75	6,20	6,10
2	*Arnoglossus laterna*	Zanchetta	3	6,49	6,65	6,50
3	*Merluccius merluccius*	Merluzzo	20	6,40	7,20	7,73
4	*Gadus poutassou*	Occhialone	5	6,62	7,10	6,89
5	*Gadus minutus*	Busbana	9	6,61	7,20	6,84
6	*Merlangus merlangus*	Arface	2	6,70	7,15	6,97
7	*Urophicis blennioides*	Volpetta	4	6,92	7,20	7,02
8	*Squilla mantis*	Panocchia	4	6,70	7,45	7,03
9	*Nephrops norvegicus*	Scampo	3	6,70	7,25	6,94
10	*Clupea alosa*	Cheppia	5	5,80	6,53	6,08
11	*Engraulis encrasicholus*	Alice	5	5,85	6,40	6,21
12	*Clupea pilchardus*	Sarda P.	5	5,85	6,50	6,20
13	*Clupea sprattus*	Sarda S.	4	6,15	6,35	6,28
14	*Box boops*	Boga	3	6,12	6,70	6,49
15	*Sgomber scombrus*	Sgombro	6	5,75	6,25	6,09
16	*Trachurus trachurus*	Sughero	4	6,25	6,49	6,36
17	*Moena vulgaris*	Menola	2	6,80	6,85	6,84
18	*Acanthias blainvillei*	Spinarolo	2	6,00	6,62	6,21
19	*Mustelus mustelus*	Palombo (feto)	1	—	—	6,30
20	*Scyliorhinus canicula*	Gattuccio	2	5,90	6,10	6,00
21	*Conger conger*	Gronco	1	—	—	6,20
22	*Cepola rubescens*	Cepola	1	—	—	7,20
23	*Sargus sargus*	Sarago	2	6,90	7,00	7,05
24	*Ophidium barbatum*	Galletto	1	—	—	6,86
25	*Gobius paganellus*	Gobio	1	—	—	7,10
26	*Coris iulis*	Donzella	1	—	—	6,92
27	*Zeus faber*	S. Pietro	1	—	—	6,75
28	*Mullus barbatus*	Triglia	4	6,48	6,70	6,59
29	*Sepia officinalis*	Seppia	1	—	—	6,52
30	*Sepiola rondeleti*	Seppiola	1	—	—	6,70
31	*Loligo vulgaris*	Calamaro	1	—	—	6,40
32	*Anguilla anguilla*	Anguilla	2	5,80	5,80	5,80

Nel Laboratorio Chimico di Pescara sono state eseguite numerose determinazioni del pH in molte specie di pesci dell'Adriatico ed i risultati ottenuti sui quali hanno già riferito il dottor Misericordia (218) e la dottoressa Cavallone (219) sono raccolti nella tabella n. 9.

Per alcune specie abbiamo anche eseguito le variazioni del pH in relazione allo stato di conservazione ed abbiamo constatato che per tutte le specie prese in considerazione, il pH aumenta col tempo; dopo 168 ore di conservazione a temperatura ambiente le specie prese in considerazione da questi nostri collaboratori presentavano in tutti i casi l'aumento di una unità.

Anche il potere tampone del muscolo di pesce è, come il pH, la risultante di un complesso di modificazioni che possono verificarsi durante l'alterazione del pesce.

Secondo Bate-Smith (220) il potere tampone del muscolo è espresso come il potere tampone B di Van-Slike (221) definito come $\frac{d\,b}{d\,(pH)}$ dove db è la quantità di base o di acido richiesto da 100 g. di muscolo in sospensione per determinare una variazione d (pH) nel valore del pH.

Notevarp e Hjorth-Hansen (222) riscontrano per primi che il muscolo di pesce stantio presenta un potere tampone più basso del muscolo di pesce fresco.

Stansby e Lemon (223) idearono una prova per stabilire la freschezza del merluzzo basato sul potere tampone: essi indicarono con « B » il volume (ml) di HCl N/60 necessario a portare una sospensione acquosa di 5 g. di muscolo di pesce dal suo pH iniziale a pH = 6,0 e con « A » il volume di HCl N/60 necessario a portare il pH della sospensione da 6,0 a 4,3: essi ritenevano che un aumento di B fosse causato dalla decomposizione batterica del muscolo, e un aumento di « A » dalla autolisi delle proteine.

La freschezza del pesce era colcolata dall'equilibrio di questi due valori. Dutting (224–209) associava la diminuzione di A con la trasformazione batterica dell'ossido di TMA, che esercita il suo massimo potere tampone a pH=4,6, ma i risultati erano diversi da quelli di Stansby e Lemon. Beatty e Gibbons (225) riscontrarono una diminuzione del potere tampone nel pesce stantio per effetto dell'idrolisi delle proteine.

Hacker (226) è ritornato recentemente sui valori di A e B di Stansby e Lemon (223) e ritiene che l'idrolisi del muscolo possa giustificare piuttosto un aumento del valore di A anzichè una diminuzione come sostenuto da Beatty e Gibbons (225). Secondo Haker l'aumento dei valori di B trova la sua giustificazione nello spostamento del pH muscolare dei pesci verso la zona alcalina, spostamento causato dai prodotti basici di decomposizione. Successivamente Dutting (207) ha preso in esame, nei riguardi del loro potere tampone, i principali componenti del muscolo dei pesci ed ha accertato che tra i componenti solubili in acqua possono contribuire in modo apprezzabile al potere tampone del muscolo, l'acido lattico e l'ossido di trimetilammina; in misura minore, e nella zona alcalina, anche i fosfati.

Differenze di alterazione a seconda della specie

I pesci si distinguono in teleostei ed elasmobranchi, ed i primi si suddividono in bentonici e pelagici in base ai loro caratteri ecologici. A queste classificazioni corrispondono pesci diversi per composizione chimica, per la struttura del muscolo, per la carica batterica in relazione anche ai fenomeni ambientali.

I – Alterazione dei teleostei marini.

I teleostei marini sono distinti in pesci a muscolo bianco e pesci a muscolo rosso. Nei pesci pelagici, che generalmente hanno muscoli rossi ed intensa attività metabolica, l'autolisi procede più rapidamente che nei pesci bentonici. Però anche tra gli stessi pesci pelagici si riscontrano notevoli variazioni nella alterazione. Le differenze di alterazione fra alcune specie di teleostei sono rappresentati nella figura n. 4 e n. 5 (227):

a) differenze di alterazione tra pesci a muscoli rossi e pesci a muscoli bianchi: Vi sono notevoli differenze nel decorso dell'alterazione tra questi due tipi di pesci a causa dei loro diversi contenuti in pigmenti, grassi, estrattivi (ammino acidi, ammine, carboidrati, acidi organici, vitamine, ecc.).

Kimata confrontando l'alterazione degli estrattivi e delle proteine muscolari ha trovato che l'alterazione batterica delle proteine è indipendente dalla specie di pesce, mentre quella degli estrattivi differisce da specie a specie. I pesci a muscolo rosso (maccarello, bonito) hanno maggior quantità di estrattivi che non i pesci a muscolo bianco (merluzzo) e quindi sono più facilmente deperibili (228).

Shimizu ed all. (229) hanno trovato che l'istamina e l'acetilcolina si sviluppano scarsamente nel corso dell'alterazione del pesce a muscolo bianco, delle seppie, dei gamberetti; ne deducono che questa sia la causa dei rari casi di intossicazione a cui da luogo il consumo di questi pesci. Il fatto che la differenza di alterazione fra queste due categorie dipenda dalla quantità degli estrattivi nel muscolo si desume probabilmente dalla differenza di pH nei due gruppi. Infatti il pH iniziale dei pesci a muscolo rosso, che contengono una elevata quantità di estrattivi come fonte di alimento per i batteri, o come sostanza tampone, è più basso di quello dei pesci a muscolo bianco;

b) differenze di alterazione fra i pesci pelagici: le differenze di alterazione in questa categoria non possono essere spiegate semplicemente con la quantità o la qualità degli estrattivi nei muscoli. Shimizu e Hibiki (203) in studi comparativi sull'alterazione del macarello e della seriola trovarono che i muscoli triturati di questi pesci si deterioravano nello stesso modo, ma nel pesce in toto si notavano differenze nella velocità di alterazione. Non si riscontravano differenze nelle basi volatili, nella trimetilammina e nel pH, ma la produzione di istamina era più rapida nel macarello rispetto alla seriola che conteneva, relativamente, notevoli quantità di istidina. Pertanto questi AA. ritengono che la più facile alterabilità del macarello, e quindi la sua maggiore tossicità, po-

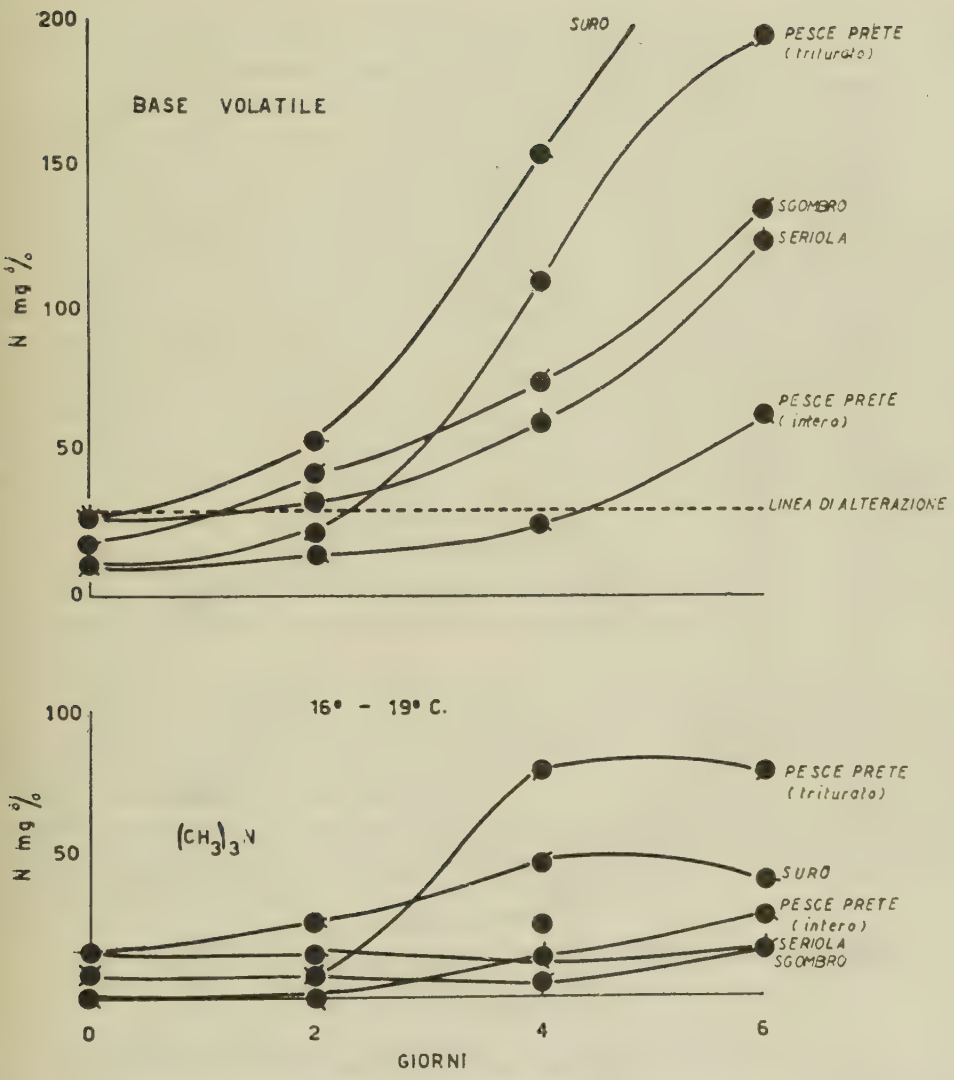


FIG. 4. — Variazioni delle basi volatili e della trimetillammina nelle diverse specie di pesci (227).

ebbe dipendere non da differenze dei loro estrattivi, ma piuttosto dalle pro-ietà fisiche dei muscoli;

c) alterazione dei muscoli rossi: la carne del pesce pelagico come il bo-to, il maccarello, la seriola, si compone di muscoli bianchi e muscoli sanguigni, uesti ultimi possono costituire un quinto di tutta la carne. Si ritiene che questi uscoli rossi contengono quantità maggiori di emoglobina, citocromo e parti-larmente di mioglobina (230). Kimata (228) trovò che l'alterazione di questi uscoli si iniziava prima degli altri. Shimizu e Hibiki (231) ottennero risultati mili per quanto riguarda la formazione delle basi volatili, ma i muscoli ordinari oducevano sempre una maggiore quantità di istamina, produzione che essi ennero ostacolata nei muscoli sanguigni dalla maggior quantità di ossido di

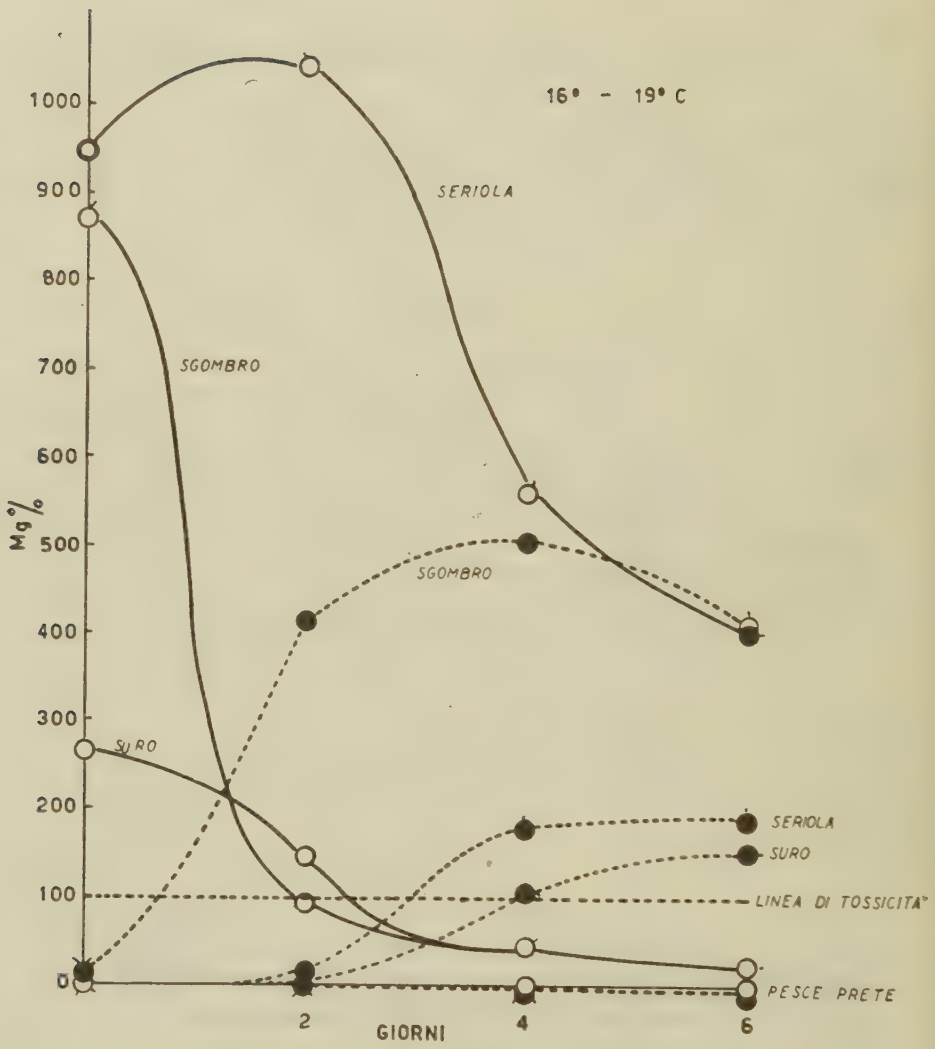


FIG. 5. — Variazioni dell'istidina (linea intera) e dell'istamina (linea tratteggiata) in diverse specie di pesci (227).

trimetilammina presente. Kawabata (232) ritiene che nel muscolo sanguigno del pesce pelagico esista un sistema biologico simile all'ossido-riduttasi della trimetilamina presente in certi batteri. Pertanto la produzione enzimatica di questa ammina è considerevole in questi pesci e può essere presa come un indice della loro freschezza.

II – Alterazione dei pesci cartilaginei.

I muscoli dei pesci cartilaginei contengono urea ed ossido di trimetilammina in quantità molto maggiore di quella degli altri pesci, ed inoltre nella loro carne si forma una notevole quantità di ammoniaca. Suyama e coll. (233) riferiscono che la quantità di urea e di ammoniaca nella carne fresca di squalo

aria da 1,2 a 1,6 % e da 15 a 150 mg. % g. Shimizu e Oishi (234) hanno trovato che il contenuto di urea e di ammoniaca nella carne fresca va da 1,4 a 1,8 % quella dell'azoto basico da 16 a 95 mg. % g. ed entrambi questi composti variano con la stagione e con la specie del pesce. Più recentemente Suyama e Okuhiro (235) confermarono i precedenti lavori e nei filetti di squalo riscontrarono 1,7-1,9 % di urea e da 6 a 24 mg. % g. di azoto basico volatile.

Reay e Shewan (34) hanno riferito che il contenuto in ossido di trimetilammina della carne degli elasmobranchi arriva ad 1,0-1,5 % ed è nettamente superiore a quello dei teleostei (0,12-0,98 %) e pertanto nella carne di questi pesci il contenuto di ossido di trimetilammina varierà notevolmente durante l'alterazione. Inoltre durante l'alterazione degli elasmobranchi si formano notevoli quantità di ammoniaca che alcuni AA. ritengono sia prodotta dalla ureasi presente nei muscoli, ma non si può escludere una azione microbica come hanno prospettato Takanashi e Tanaka (236) i quali rinvengono piccole quantità di ammoniaca nei muscoli conservati con antisettici, risultati confermati da Shimizu e Oishi (237).

Shimizu e Hibiki (203) osservano che la formazione dell'azoto basico volatile subisce una fase di rallentamento durante l'alterazione che si verifica quando non si sviluppa più ammoniaca essendo terminata la decomposizione dell'urea esterna.

Elliot (238) studiando il rapporto tra la riduzione dell'ossido di trimetilammina ed il pH nello *Squalus acanthias* osservò che la riduzione cessava prima di essere completa, forse a causa dell'elevato valore del pH; un fenomeno simile è stato osservato da Shimizu ed all. (239).

Ad ogni modo la formazione di grandi quantità di ammoniaca e di trimetilammina dimostra la notevole differenza che esiste tra l'alterazione degli elasmobranchi e teleostei.

Alterazioni del pesce congelato

Le alterazioni prodotte nei pesci dal metabolismo batterico sono in massima parte inibite dalle basse temperature, e pertanto durante la distribuzione e la conservazione del pesce si pratica una larga applicazione del freddo sia con l'uso del ghiaccio che di impianti frigoriferi. Ma durante la conservazione a basse temperature si manifestano nel pesce fenomeni alterativi.

Reay (240) fu il primo a prospettare una modificazione strutturale delle proteine durante il congelamento, e dimostrò che le proteine del muscolo di pesce congelato abbassavano la loro solubilità nelle soluzioni saline.

Dyer, French e Snow (241) dimostrarono che questa modificazione si limitava all'actomiosina che è la proteina maggiormente responsabile della struttura del muscolo di pesce. Successivamente Dyer (242) dall'esame dei caratteri organolettici accertò nel pesce congelato due modificazioni: la prima consiste nella perdita della tenerezza e nel subentrare di una progressiva legnosità, la seconda nella perdita del sapore di pesce fresco, con il manife-

starsi di una mancanza di sapore e con la produzione finale di sapori ed odori disgustosi.

Lo sviluppo della tigliosità, considerato dal punto di vista organolettico, procede di pari passo con la solubilità dell'actomiosina e ciò fa pensare che la denaturazione delle proteine sia sicuramente responsabile del decadere della qualità. Infatti l'abbassamento del punteggio assegnato da una giuria di degustazione procede sia a —23° che a —12° di pari passo con l'andamento della curva di solubilità delle proteine (fig. 6).

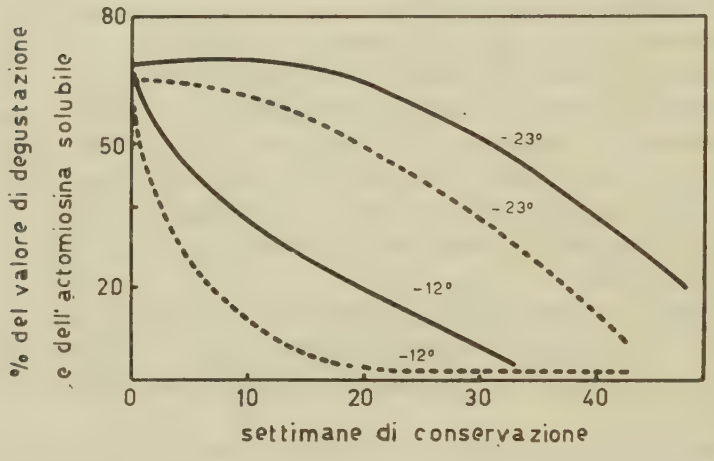


Fig. 6.

Il manifestarsi di sapori ed odori disgustosi è invece, in relazione alle alterazioni del grasso poichè le basse temperature non arrestano quelle reazioni anzimatiche che determinano la scissione dei grassi. Studi sulla ossidazione del grasso, attraverso la determinazione della rancidità (indice di perossido) e degli acidi grassi liberi dimostrano che durante le ultime fasi del processo di conservazione si manifesta un notevole aumento della rancidità, aumento che corrisponde allo sviluppo dei sapori disgustosi riscontrati durante la degustazione. Analisi di filetti di scorfano (*Sebastes marinus*) mostrarono un netto aumento dell'indice di perossido durante la conservazione a — 12° e — 23° (fig. 7).

Anche secondo Wood (243) i filetti di pesce si alterano gradualmente quando sono congelati a temperatura fino a — 20°, ed un tipo di alterazione è la liberazione di acidi grassi liberi, che possono provenire dall'idrolisi dei trigliceridi o dei fosfolipidi, ed anzi a questo ri-

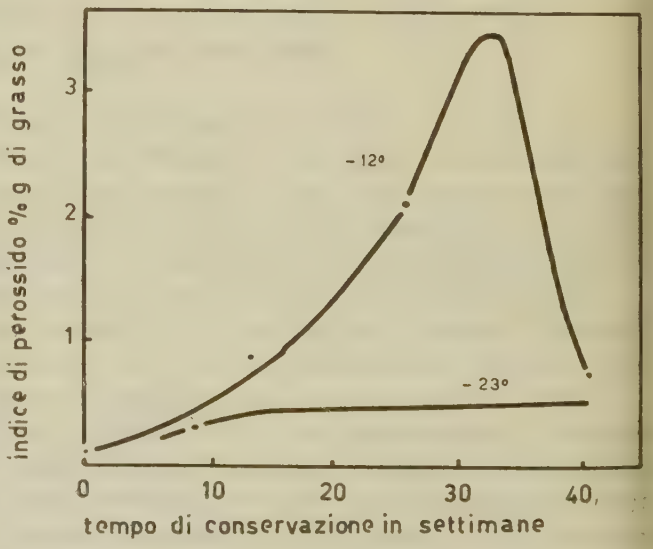


Fig. 7 (242).

uardo Wood prospetta l'ipotesi dell'esistenza nel muscolo del merluzzo di na fosfolipasi.

Secondo AA. giapponesi (244) la conservazione a basse temperature pro- uce nel pesce modificazioni indesiderabili che sono in relazione principalmente on la trasformazione irreversibile della frazione proteica del pesce congelato. l tessuto muscolare denaturato perde la capacità di rigonfiarsi, di mante- ersi turgido e di riprendere la sua consistenza normale una volta decongelato. 'entità della denaturazione dipende dalla composizione e dalla freschezza el muscolo

Parecchie condizioni influiscono sul grado di denaturazione delle proteine uscolari del pesce con il congelamento: la composizione e la freschezza del uscolo all'atto del congelamento, se il congelamento avviene durante l'instau- arsi del rigor-mortis; il metodo di congelamento esercita pure la sua influenza. nche Jronside e Love (245) sono del parere che il pesce congelato modifichi i oi caratteri; con la conservazione a temperatura inferiore a 0° diviene progres- vamente di struttura più consistente ed alla scongelazione libera un abbon- nte essudato. Questo essudato è dovuto alla formazione, specialmente durante congelamento lento di grossi cristalli di ghiaccio che rompono le cellule del ssuto, i liquidi intracellulari fuoriescono e danno luogo alla produzione del uido durante lo scongelamento.

Seagran (246) ha studiato le proprietà della frazione actomiosinica del uscolo di pesce sottoposto a congelamento determinandone: l'attività chimica traverso la determinazione dei gruppi solfidrilici la quale non presenta varia- oni significative, e la solubilità che aumenta fino a 30 giorni di conservazione quindi decresce per scendere a valori nettamente superiori a quelli iniziali, mento di insolubilità che giustifica la diminuzione della viscosità.

Ricercatori russi (247), ritengono che la congelazione rapida del pesce rta alla formazione di piccoli cristalli di ghiaccio nei tessuti, ed è la più idonea r il trattamento del pesce. Nel pesce fresco congelato a — 25° si ha formazione piccoli cristalli ed un insignificante danno ai muscoli, se invece la congela- one è lenta si formano cristalli più grandi e danni più notevoli al tessuto.

Recentemente Moorjani, Montgomery e Coote (248) hanno accertato traverso accurate indagini, applicando metodi statistici, che esiste un rapporto a le modificazioni strutturali che il muscolo di pesce subisce con il congela- ento e la diminuzione delle proteine solubili in soluzioni saline.

Non esistono invece sostanziali differenze tra i processi alterativi del pesce nservato normalmente in ghiaccio e quelli del pesce che sia stato sottoposto un preventivo congelamento. Stewart (249), Crooks e Ritchie (250), Costa e annella (251), e Stille (252) non furono capaci di stabilire alcuna differenza tevole nella velocità di deteriorazione fra il pesce normale e quello congelato, con metodi soggettivi che obbiettivi. Luijpen (253) osserva che il filetto di erluzzo congelato e poi disgelato raggiunge il valore limite per la TMA 3 mg % g.) con 4 giorni di ritardo rispetto al filetto non congelato, ma questo ultato non concorda con la valutazione organolettica e pertanto, secondo esto A. la determinazione della TMA si dimostra un saggio inadeguato per

stabilire obbiettivamente la qualità del pesce che sia stato in precedenza congelato. Anche in base agli altri indici studiati (conteggio batterico, azoto ammoniacale, acidi volatili, indice di tirosina) il Luijpen conclude che non esiste un metodo obbiettivo per valutare le qualità del pesce che viene disgelato dopo un rapido congelamento.

METODI CHIMICI E CHIMICO-FISICI PER VALUTARE LA FRESCHEZZA DEL PESCE

Come abbiamo già detto sono stati proposti molti schemi per l'esecuzione dell'esame organolettico dei pesci, ma il giudizio che da esso si può trarre, oltre a presentare il difetto fondamentale costituito dalla mancanza di obbiettività e di precisione, difetto comune a tutti i giudizi di questo genere, richiede un esperto particolarmente addestrato dotato di qualità naturali e la cui preparazione richiederà in ogni caso molto tempo.

Inoltre molti caratteri organolettici possono essere falsati dai trattamenti che il pesce ha subito: l'apparizione di una colorazione rossa lungo la colonna vertebrale è una delle modificazioni più costanti ed una delle prime che appare nel pesce, ma la congelazione e la decongelazione possono farla apparire più intensa in un pesce fresco che in uno stantio di 5 giorni (254). Per quanto riguarda l'odore sappiamo che la sovrapposizione di parecchi odori può creare incertezza di giudizio che non consentono di determinare con esattezza tutti i termini di passaggio della scala dei valori organolettici del pesce (40–51). Alcuni trattamenti di conservazione possono impedire il manifestarsi di qualche carattere alterativo senza arrestare il progredire di altri tipi di reazione. Ad esempio: l'acido benzoico ed il nitrito di sodio impediscono la formazione della $(CH_3)_3N$ (trimetilamina).

L'esame organolettico però, anche se può essere impreciso conserva ancora la sua piena validità ai fini ispettivi, ed anche per misure obbiettive sui prodotti della pesca, i limiti e le scale di qualità sono stabilite in base al raffronto con i caratteri organolettici. Solo dopo aver accertato che esiste una sicura correlazione tra la misura obbiettiva e quella organolettica, la successiva valutazione del prodotto si può basare sul metodo obbiettivo.

Shewan ha studiato (178–255) con grande ricchezza di dati sperimentali la deteriorazione degli haddock conservati in ghiaccio, ed ha stabilito la correlazione tra la produzione di amine volatili, di ammoniaca, il contenuto batterico, ed i caratteri organolettici del pesce. Gli haddock pescati con la rete a strascico erano accuratamente lavati e sventrati dopo la cattura e conservati in casse con una grande quantità di ghiaccio. I pesci passavano attraverso una successione di fasi facilmente riproducibi, i cui caratteri organolettici sono raccolti nella tabella n. 10. Questa tabella è valida per tutti i pesci di media grandezza, gadidi, del Nord America e dell'Europa. Il pesce nella prima fase è giudicato ottimo anche dai più esperti conoscitori; anche quello della seconda fase è giudicato ottimo e solo qualche giudice particolarmente sensibile vi di-

cerne un sapore di incipiente alterazione. Il pesce nella terza fase è sgradevole, nche se non può giudicarsi sempre inaccettabile: da tutti i giudici viene classi- icato « stantio »; nella quarta fase il pesce è inaccettabile.

Tabella N. 10

Stadi organolettici della decomposizione del merluzzo conservato in ghiaccio e manipolato accuratamente

STADIO	DURATA DELLA CONSERVAZIONE IN GHIACCIO (giorni)	DESCRIZIONE DELLE PRINCIPALI MODIFICAZIONI CHE SI VERIFICANO DURANTE LA CONSERVAZIONE
I	0	Completamente fresco, nessuna decomposizione.
	3	Muscolo leggermente più compatto. Cessata la rigidità cadaverica.
	6	Muscolo notevolmente più molle. Occhi opalescenti non più lucidi e leggermente incavati. Assente il vero odore fresco del mare: odore neutro.
II	9	Muscolo più molle. La pelle ha perso notevolmente la lucentezza. Occhi grigi e incavati. Il muco diviene lattiginoso. Odore dolciastro e penetrante, ma non di stantio.
	12	Muscolo molle. Apparenza generale stantia. Il muco aumenta, diviene appiccicoso, torbido, grumoso. Odore definitivamente stantio. Leggera colorazione rossa lungo la spina.
III	15	Muscolo molto molle. Pelle molto molle, molto attaccaticcia e di brutto aspetto; muco granulare. Odore cattivo, un poco ammoniacale. Arrossamento intorno alla spina.
IV	20	Muscolo molto molle che si stacca dalla spina molto facilmente. Muco giallastro o bruno. Odore putrido (ammoniaca, solfuri, indolo, ecc.). Netto arrossamento intorno alla spina.

Nella figura 8 sono riportate sulle ascisse queste fasi organolettiche della lterazione e si osserva che la successione degli indici chimici e batteriologici in stretto rapporto con le fasi di alterazione organolettica.

Nonostante l'indiscusso valore da attribuire ai metodi organolettici per la alutazione della freschezza del pesce, tutti auspicano l'adozione di metodi cientificamente obbiettivi.

Secondo Reay e Shewan (34) un metodo obbiettivo dovrebbe essere capace i valutare accuratamente o con elevata sensibilità i prodotti del deterioramento i questione, che dovrebbero essere assenti (o presenti in concentrazioni costanti) el pesce non deteriorato per aumentare in modo rapido e regolare una volta iziato il processo di deteriorazione; inoltre, come abbiamo premesso questi sultati debbono andare d'accordo con il giudizio organolettico.

Recentemente Stansby (256) è ritornato sull'argomento con tutta la sua autorità per precisare che questi saggi di freschezza hanno lo scopo di misurare le alterazioni sopravvenute dal momento della cattura con particolare riferimento a quelle che influenzano direttamente la qualità del pesce. Altro obbiettivo dei saggi di freschezza è quello di poter formulare un giudizio sul periodo durante il quale il pesce in esame conserverà ancora i caratteri di commestibilità, ed infine quello di stabilire il tempo di cattura del pesce, che, come è noto, dipende dalla temperatura di conservazione.

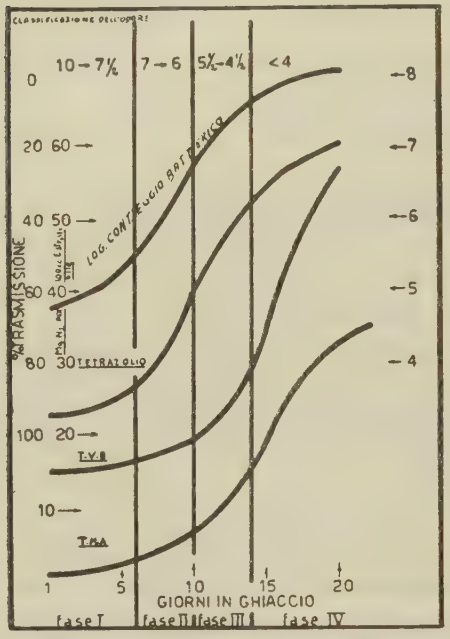


FIG. 8. — Andamento degli indici chimici e batteriologici in relazione con le quattro fasi di alterazione organolettica previste dalla tab. 10 (171).

Le variazioni che, si manifestano nei componenti del pesce sono dovute all'attività metabolica del muscolo, la quale porta alla formazione di composti che dopo la morte del pesce si accumulano e possono essere messi in relazione con il rapporto tempo–temperatura.

Generalmente il contenuto delle sostanze assunte come criterio per stabilire la freschezza del pesce, aumenta durante l'alterazione.

Kurttzman e coll. (257) osservano in un loro recentissimo lavoro a questo riguardo, che non si sa con certezza se questi aumenti indicano il grado di deterioramento durante il precedente periodo di conservazione e, pertanto, ritengono che un metodo basato sulla determinazione di sostanze, costituenti normali dei tessuti del pesce, che scompaiano durante l'alterazione, rappresenti una base illogica per stabilire un indice di freschezza.

Stansby ritiene inoltre che la ricerca di un singolo saggio per riconoscere la freschezza del pesce, applicabile a tutte le specie di pesce, è una cosa impossibile. Abbiamo già descritto il complesso di fenomeni biochimici che si verificano durante l'alterazione del pesce; questi fenomeni, del tutto diversi tra loro, provocano nel pesce modificazioni diverse e richiedono quindi reazioni diverse per la loro valutazione. Dice lo Stansby che non si può confrontare il saggio « A » con il saggio « B » e dire che uno è più valido dell'altro, si dovrebbe invece stabilire quale ricerca chimica o di altro genere, effettuata congiuntamente ad un'altra dia maggior affidamento per valutare l'alterazione intervenuta: ad esempio tre determinazioni, nessuna delle quali sia in buona correlalazione con la freschezza per tutti i lotti di pesce, potrebbero essere utilmente applicate come unico criterio di giudizio. Ad esempio Hillig e coll. (258) prendono in considerazione otto determinazioni per stabilire l'alterazione del pesce.

Analoghe considerazioni sono già state espresse da uno di noi al IX Congresso della Società Italiana delle Scienze Veterinarie (1955) (259).

Ciò premesso passiamo rapidamente in esame i più importanti tra i numerosissimi saggi proposti per la valutazione della freschezza del pesce e che per comodità abbiamo raccolto nella tabella 11.

– Azoto basico volatile.

I composti azotati volatili di natura basica sono: NH_3, $(CH_3)_2NH$, $(CH_3)_3N$; questi composti possono essere determinati singolarmente oppure complessivamente, in questo ultimo caso i risultati si esprimono come azoto basico volatile. Il dosaggio globale dell'azoto basico volatile è una misura meno sensibile di quella di un singolo componente.

Questo è storicamente il metodo verso il quale si sono indirizzati i primi ricercatori per stabilire obbiettivamente lo stato di conservazione del pesce. Wilmans ed Otto (260) nel 1925, Shimizu (261) nel 1925, Glassmann e Rochwarger (262) nel 1929, Tanikawa (263) nel 1935 e contemporaneamente Lucke e Geidel (264) stabilirono come valore iniziale per tutti i pesci esaminati 20 mg. di azoto basico volatile per 100 g. di pesce. Durante la conservazione il contenuto di azoto basico volatile aumenta lentamente in principio, poi abbastanza velocemente. Secondo Lucke e Geidel (264) fino a 30 mg. di azoto volatile per 100 g. i pesci sono ancora buoni, fra 30 e 50 mg. la loro conservabilità è limitata, oltre 50 mg. % g. i pesci sono completamente guasti; il limite di commestibilità viene fissato a 40 mg. % g.

Pure nel 1935 Boury e Schwinte (25), in uno studio critico sui metodi per scoprire la deteriorazione incipiente del pesce, conclusero che la valutazione dell'azoto volatile, amminico o ammoniacale costituiva il metodo migliore: queste sostanze presenti soltanto in piccola quantità nel pesce fresco aumentano regolarmente con l'aumentare della deteriorazione batterica.

Beatty e Gibbson (118) dimostrarono che l'autolisi giocava un ruolo molto piccolo nella produzione delle basi volatili, la concentrazione delle quali aumentava nel pesce con l'aumentare della popolazione batterica e, durante il periodo che va dalla cattura all'inizio delle deteriorazioni, aumentava ogni giorno in media di 6 mg. di azoto % g. di pesce. Comunque essi trovarono, in accordo con Reay (266), che i valori iniziali dell'azoto basico volatile oscillavano tra 5 e 12 mg. per cento grammi di muscolo; questi AA. concludono che la determinazione delle basi volatili non può servire come indice utile per stabilire l'incipiente alterazione poichè non si può fissare con sicurezza il suo valore iniziale nel pesce fresco.

Tanikawa (153) ritiene che la determinazione quantitava delle basi volatili possa applicarsi in misura soddisfacente allo studio delle modificazioni dei tessuti. Quando i prodotti che favoriscono la moltiplicazione batterica si sono accumulati per autolisi, la flora batterica diviene rapidamente molto attiva e la quantità di basi volatili aumenta bruscamente. Questo aumento brusco delle basi volatili si verifica alla concentrazione di 30 mg. per 100 g. che costituisce il limite di freschezza per la carne di pesce secondo Tanikawa.

TABELLA N. 11

Metodi chimici per la valutazione della freschezza del pesce

DETERMINAZIONE	Limite o risultato per la commestibilità	AUTORE (riferimento bibliografico)	NOTE
1. BASI VOLATILI (espresse in mg di N % g di pesce)	30	Tillmans e Otto (260)	
	30	Tanikawa (263)	
	30	Lucke e Geidel (264)	
	12	Hjorth-Hansen (267)	
	60	Pialek (268)	
2. AMMONIACA (espressa in mg % g di pesce)	30	Wierzukowski (281)	Pesce acqua dolce
	60	Wierzukowski (281)	Pesci magri
	20–25	Glasman e Rochwarger (262)	
	16	Beatty e Gibbons (118)	
	15–30	Testa (285)	
3. TRIMETILAMINA (espressa in N trimetilaminico mg % g pesce)	5–7	Sigurdsson (167)	Aringhe
	5	Castel e Triggs (292)	
	3,68	Wierzkowski (294)	Pesce fresco
	6,19	Wierzkowski (294)	Pesce stantio
	10	Horje e Sekine (296)	
	13	Luijpen (253)	Merluzzo
	12	Shewan (178-255)	
	0,4	Stansby (256)	Pesce fresco
	2,0	Stansby (256)	Pesce stantio
4. DIMETILAMINA (espressa in N-DMA mg % g pesce)	4	Shewan (178-255)	
	1,5	Varela e Woijcieck (300)	
5. AMINOACIDI (mg % g pesce):			
Lisina	30	Shewan e Jones (139)	
Istamina	tracce	Hillig (318)	Pesce fresco
	3	Hillig (318)	Pesce stantio
Tirosina	18	Varela e Woijciech (300)	
6. ACIDI VOLATILI (ml NaOH N/100 % g di pesce)	60	Sigurdsson (167)	
	62	Hillig (317)	Tonno
	39	Hillig (318)	Merluzzo
Acido formico (mg % g) ..	tracce	Hillig (318)	
Acido acetico (mg % g) ..	4	Hillig (318)	
Acido succinico (mg % g)	3	Hillig (318)	
7. SOSTANZE VOLATILI RIDUTTRICI (VSR) (espresse in ml $KMnO_4$ N/10 % g)	60	Stroheker (326)	
	30	Tomhiyasu (327)	
(su microequivalenti di ossigeno per 5 ml succo muscolare)	16	Farber e coll. (329 e seg.)	
8. GLICOGENO EPATICO	scomparso	Testa e Simongini (327 bis)	
9. METODO IODOMETRICO (ml soluzione J/100 g pesce)	8–9	Truttwin (336, 337, 338)	
	7	Orlandi (339)	
10. REAZIONI DI PRECIPITAZIONE:			
Cloruro mercurico	Nessun intorbidamento	Amano (38)	
		Orlandi (345 e 346)	
Formalina neutra	Nessuna precipitazione	Sasaki e Fujimaki (347)	
11. RANCIDITÀ DEI GRASSI (espressa in mg di aldeide malonica % g pesce)	5	Ryan e Stansby (352)	
12. RIBOSIO (% ribosio non precipitabile)	80	Shewan e Jones (139)	
13. REAZIONI CROMATICHE:			
para-chinone	Colorazione gialla	Obata e Žama (353)	
		Bortone e Testa (354)	
sali di tetrazolio	Nessuna colorazione	Shewan e Liston (171)	
		Cavallone (358)	

In epoca più recente Hyorth-Hansen (267) confronta vari metodi di determinazione delle basi volatili (per diffusione, per distillazione, ecc.), trova valori concordanti per i diversi metodi e precisamente 12 mg. di azoto volatile per 100 g. nel merluzzo fresco; 141 nel merluzzo scadente scongelato, nell'*Isurus glasus* 43 mg. per 100 g. dopo 11 giorni, 116 dopo 19, e 190 dopo 23 giorni.

Secondo Pialek (268) il solo metodo di fiducia per svelare le fasi precoci della putrefazione era quello di dosare le basi volatili; per 100 g. di muscolo di merluzzo 75 mg. di basi libere espresse come NH_3 (= 60 mg. di azoto) è il massimo livello accettabile per un prodotto commestibile. Questo A. esegue la determinazione facendo bollire la carne con acqua resa alcalina con MgO; gli spagnoli Goncalves Ferreira e coll. (269) per le sardine fresche e conservate fissano rispettivamente i valori massimi per la commestibilità in 30 e 50 mg. per 100 g. Tomiyama (280–271) ha cercato di rendere il metodo più rapido procedendo alla determinazione delle basi volatili sia per distillazione nel vuoto che per reazione con aria priva di CO_2 (272) dopo aver eliminato le proteine con acido tricloroacetico.

Tsuchiya e Kayama (273) hanno proposto un metodo colorimetrico per la determinazione delle basi volatili; che è stato sperimentato con risultati soddisfacenti anche dalla nostra dottoressa Cavallone (274) sulla fauna ittica dell'Adriatico.

Infine Montgomery (275) descrive dettagliatamente una modifica al metodo di Conway (276) per la determinazione dell'azoto volatile.

Partmann (277), pur ammettendo che la determinazione dell'azoto volatile presenta l'inconveniente di una grandissima variabilità individuale indipendente dalla specie, conviene che esiste una buona correlazione tra la determinazione organolettica dell'odore ed il contenuto in azoto volatile; anche Riemann (278) afferma che la determinazione dell'azoto volatile con il metodo di Conway da i risultati maggiormente concordanti con l'esame organolettico.

Non possiamo chiudere questo capitolo sulla determinazione dell'azoto basico volatile senza ricordare i notevoli contributi portati all'argomento da Shewan (171) e coll. Questo A. come vedremo si è occupato a fondo anche della determinazione dei singoli componenti dell'azoto basico volatile, e le sue esperienze sono state condotte per molti anni sui merluzzi pescati con la rete a strascico nel mare del Nord e conservati in condizioni diligentemente controllate per 21 giorni. I risultati ottenuti nelle determinazioni delle basi volatili totali (TVB), con il metodo di Conway modificato, sono stati sottoposti ad una valutazione statistica e correlati con il sapore del pesce cotto. È stata trovata una correlazione del seguente tipo: sapore del pesce cotto + 0,74 log. 10 (1 + TVB) = 15,9 che da una deviazione di ± 1 nella scala dei valori del sapore precedentemente stabilita (fig. 9).

I – Ammoniaca, dimetilammina, trimetilammina.

L'HN_3 aumenta rapidamente solo in una fase già avanzata dell'alterazione salvo che negli elasmobranchi nei quali può servire ad apprezzare il tempo di cattura del pesce (206).

Sono stati proposti molti metodi per la determinazione dell'HN_3 tutti sono basati sull'impiego del rettivo di Nessler: le differenze consistono nel metodo di separare dai tessuti l'NH_3 da sottoporre all'esame colorimetrico (279-280).

Wierzochowski (281) stabilisce il limite di commestibilità per i pesci magri a 60 mg. di NH_3 % g.; per i pesci di acqua dolce a 30-40 mg.; mentre nelle aringhe ha trovato piccole quantità di NH_3 libera anche in uno stadio avanzato di decomposizione.

Glassman e Rochwarger (262) danno per i pesci un contenuto di 20-25 mg. per 100 g. di muscolo; Beatty e Gibbson (118) ritengono che il tasso di NH_3 nella carne può costituire una misura soddisfacente del grado di freschezza e ritengono che la carne dei gadidi per essere idonea al consumo dovrebbe contenere meno di 16 mg. di NH_3 per 100 g. di pesce. Recentemente anche Amano (282) conclude favorevolmente sull'impiego della pratica corrente di un metodo rapido di dosaggio dell'NH_3.

Shimizu e Oishi (283) hanno studiato la formazione dell'NH_3 nel muscolo di squalo ed hanno concluso che l'NH_3 proviene in parte dall'urea presente nel

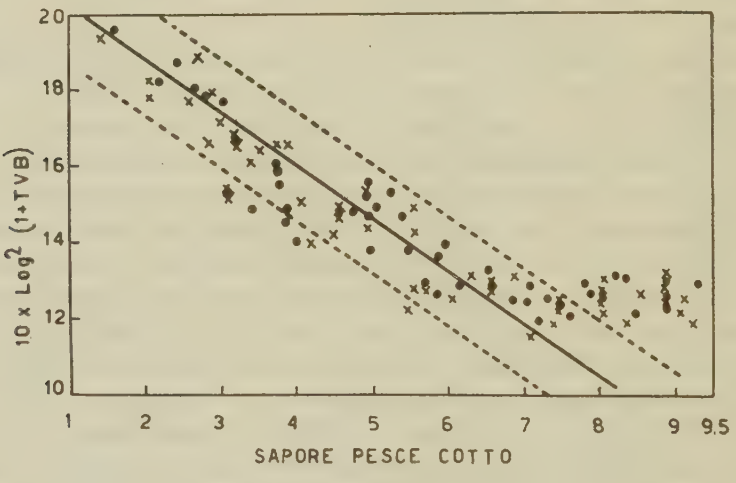


Fig. 9.

muscolo disintegrata dall'azione della ureasi messa in libertà dalla secrezione di urobatteri; gli AA. non hanno riscontrato la presenza di ureasi nel muscolo di squalo.

Il tenore di urea nel muscolo sterilizzato scende durante i primi 2-4 giorni da un massimo di 700 mg. per 100 g. ad un minimo di 250, mentre nello stesso periodo aumenta rapidamente la quantità di azoto ammoniacale fino ad un massimo di 480 mg. per 100 g., e, dopo un periodo di flessione, riprende a salire negli otto giorni seguenti fino a 680 mg. mentre l'azoto ureico scende a 200 mg. sempre per 100 g. di pesce.

In Italia, della determinazione dell'NH_3 nel muscolo dei pesci si sono già cupati Gagliardi (284) ed uno di noi (285) che applicando il metodo di Wierz- owski, ecc., ha ottenuto per le nostre specie ittiche i valori della tabella 12.

Tabella N. 12

ntenuto in ammoniaca (mg/100 g. di pesce) *delle specie ittiche dell'Adriatico*

SPECIE	Fresco	Stantio	Putrefatto
upea sprattus (Sarda)	25	35	240
graulis enchrasicholus (Alice)	20	27	230
ugil cephalus (Cefalo)	20	30	215
ullus barbatus (Triglia)	20	32	235
ops boops (Boba)	20	30	225
mber scombrus (Sgombro)	17	33	220
achurus trachurus (Sughero)	15	25	190
bius paganellus (Gobbio)	20	25	220
lea solea (Sogliola)	16	30	185
erluccius merluccius (Merluzzo)	20	25	220
hidion barbatum (Galletto)	20	30	220
ja clavata (Razza)	30	35	240

La determinazione della $(CH_3)_3N$ ed in misura minore della $(CH_3)_2NH$ stata senza dubbio quella che ha richiamato la massima attenzione da parte tutti gli AA. che si sono occupati della ricerca di un metodo obbiettivo per abilire il grado di freschezza del pesce.

Le variazioni della $(CH_3)_3N$ (TMA) sembrano riprodurre meglio delle altre stanze volatili lo stato di conservazione del pesce di mare e perciò sono stati oposti molti metodi per il suo dosaggio.

Boury e Schwinte (265) partono da un estratto muscolare defecato con ido tricloroacetico e trascinano l'azoto volatile al vapore d'acqua sotto vuoto, presenza di $LiCO_3$ che si è dimostrato più adatto degli altri reattivi basici erimentali; dosando in seguito la TMA su una parte aliquota del distillato l quale le basi primarie e secondarie sono distrutte con acido nitroso. Questo etodo è stato usato anche da Reay (266) e da Shewan (255) che modifica il tra- inamento delle basi volatili. Ma Hjorth-Hansen e Barker (286) dimostrarono e il trattamento con acido nitroso provoca una perdita di TMA.

Altri metodi frazionano l'azoto volatile con il formolo e determinano la mma delle ammine secondarie e terziarie, poichè si è dimostrato che in pratica n è necessario effettuare la separazione.

Beatty e Gibbons (118) trattano il succo del muscolo con formolo e car- nato potassico ed assorbono le basi volatili con il metodo Conway (276); r piccole quantità di basi volatili Watson (84–135) raccoglie su acido borico,

Lintzel (287) impiega un estratto defecato che area in presenza di formolo e di soda. Hol'mov (288) sposta dapprima l'azoto totale volatile per distillazione diretta in presenza di MgO e poi tratta con formolo.

Questi metodi non danno tutti gli stessi risultati e Notevarp e coll. (206) hanno ripreso in esame la determinazione della TMA studiandola sistematicamente da tutti i punti di vista, e poichè gli estratti acquosi danno risultati incostanti è più opportuno defecarli, ed a questo scopo si è dimostrato praticamente comodo l'impiego dell'idrato ferrico. Tutti questi metodi sono però molto lunghi e Dyer (160–289) ha fatto ricorso ad un principio del tutto nuovo che è stato applicato con successo nel nostro Laboratorio come riferiranno in questa sede i dottori Luise e Perna (290).

Dyer isola le basi organiche dall'estratto acquoso del muscolo per agitazione con toluene in ambiente alcalino, quindi le fa reagire con una soluzione molto diluita di acido picrico. L'intensità della colorazione gialla che si sviluppa viene misurata allo spettrofotometro. La colorazione è dovuta in massima parte alla TMA, solo negli stadi molto avanzati di alterazione si formano altre ammine che interferiscono come abbiamo visto nella prima parte di questa rassegna. Questo metodo colorimetrico è sufficientemente rapido e preciso, pertanto la determinazione della TMA corrisponde alle condizioni richieste per un buon indice obbiettivo della qualità.

Baetty e Gibbons (118) dimostrarono che la TMA è praticamente assente nel muscolo fresco e viene prodotta dal metabolismo batterico ad una velocità che nelle prime fasi dell'alterazione è superiore a quella dell'NH_3, e quindi dava affidamento di essere un indice di freschezza più efficace.

Shewan (178–255) che, come abbiamo già detto, ha studiato a fondo questo argomento, ricollega queste alterazioni biochimiche con quelle organolettiche da lui riassunte in 4 fasi (tab. 10) e fa rilevare che lo sviluppo batterico non è notevole nella prima fase che rappresenta il periodo di indubbia freschezza del pesce, e la dimetilammina aumenta costantemente a partire da zero (pesce fresco, seguendo da vicino la curva dell'incremento batterico).

Nella seconda fase i batteri e la $(CH_3)_2NH$ aumentano mentre la TMA proveniente dalla riduzione dell'ossido comincia pure ad aumentare in modo netto a metà della seconda fase, cioè dopo circa 9 giorni, quando l'azoto trimetilamminico ammontava a circa 3,5 mg. per 100 g. Alla fine della seconda fase si manifesta un definitivo odore di stantio dovuto alla accelerazione dello sviluppo batterico che arriva a $10^{6,5}$ batteri/g e specialmente a causa della formazione di TMA che è salita a circa 7 mg. %.

Durante la terza fase, nella quale il pesce diviene prossimo allo stato di incipiente alterazione, diminuisce la velocità di sviluppo dei batteri e della DMA, mentre la TMA aumenta ed arriva a 12-15 mg. % ed appare per la prima volta l'NH_3 che comincia a formarsi rapidamente indicando l'inizio della proteolisi e della vera e propria putrefazione.

Nella quarta fase, durante la quale il pesce diviene putrido, diminuisce la produzione di TMA, e specialmente a causa dell'esaurimento dei substrati, mentre si accresce l'NH_3 fino al 23° giorno.

Per il pesce veramente fresco, cioè per il pesce che non è ancora uscito alla prima fase, si può stabilire in 1,5 mg. % il contenuto in TMA, una seconda categoria di pesce non più freschissimo, ma sempre di ottima qualità dovrebbe contenere non più di 6 mg. % di TMA; con quantitativi maggiori di TMA il pesce deve considerarsi definitivamente stantio e di qualità mediocre si potrebbe stabilire come limite di commestibilità 12 mg. di TMA% g. pesce.

Come abbiamo già detto molti AA. si sono occupati della determinazione della TMA nella carne dei pesci ed è importante vedere quali sono i limiti stabiliti al contenuto in TMA per la commestibilità del pesce e quali sono le principali critiche al metodo.

Sigurdson (167) suggerisce per le aringhe fresche un valore limite compreso tra 5 e 7 mg. per 100 g. ma osserva che nelle aringhe refrigerate la rancidità determina una notevole perdita della qualità prima ancora che abbia inizio la produzione di TMA.

Queste osservazioni di Sigurdsson hanno avuto una recente conferma (291) in esperienze condotte su aringhe mantenute a temperaura ambiente (2-10°) per 4 giorni. Pesci interi sono stati analizzati ad intervalli di 9 ore, si è osservata una lenta produzione iniziale di TMA (10 mg. per 100 g. dopo 40 ore) seguita da un aumento più rapido con un rallentamento finale dopo 90 ore, quando si è raggiunto il valore di circa 100 mg. di TMA per 100 g. di pesce. Nello stesso intervallo di tempo l'NH_3 aumenta da 15 a 56 mg. per 100 g. e la dimetilammina da 0 a 8 mg. per 100 g.

Castell e Tringgs (292) consigliano per la TMA i seguenti valori standard: da 0 a 1 mg. per 100 g.: pesce fresco; da 1 a 5 mg.: pesce stantio o con incipiente alterazione; oltre 5 mg. pesce deteriorato.

Nikkila (293) ha studiato la formazione della TMA nella *Clupea harengus* che vive nelle acque poco salate del Baltico ed ha osservato che la TMA ed NH_3 si formano contemporaneamente, dopo 8 giorni di conservazione a 0° e 4 giorni a 18°, l'NH_3 aumenta e la TMA diminuisce, poi risale, raggiunge un massimo e ridiscende a zero.

Anche nelle esperienze condotte da Luise e Perna nel nostro Laboratorio è stato osservato una diminuzione della TMA nelle fasi avanzate dell'alterazione (290).

Secondo Wierzchowski (294) la TMA nel pesce fresco varia da 0,38 a 3,68 mg. per 100 g. di muscolo di pesce, che, al limite della commestibilità, ne contiene da 5,98 a 18,68 mg. per 100 g.; per il pesce incommestibile il contenuto varia da 8,14 a 34,83 mg. per 100 g.

Good e Stern (295) nella sogliola inglese conservata in ghiaccio osservano che il contenuto di TMA rimane ad un basso livello per aumentare bruscamente quando il pesce diviene incommestibile.

Per i giapponesi Horje e Sekine (296) esistono grandi differenze nella quantità di TMA che si forma nel muscolo dei diversi pesci durante l'alterazione. In molti pesci a carne rossa la quantità di TMA che si produce durante l'alterazione è piccola ed irregolare, mentre è elevata nei pesci a carne bianca, ma

generalmente in tutti i casi il tenore in TMA del muscolo di pesce fresco è inferiore ad 1 mg. per 100 g. Nel caso dei pesci a carne bianca la determinazione della TMA può essere usata per riconoscere l'alterazione batterica del muscolo di pesce, quando la quantità di TMA supera i 10 mg. per 100 g., il numero dei batteri è talmente elevato che il pesce è molto vicino alla putrefazione.

Dussault (297) riconosce invece che la determinazione della TMA concorda perfettamente con il giudizio organolettico nel caso del *Sebastes marinus* o capra di mare, uno dei pesci di maggiore consumo sulle coste atlantiche del Canadà.

Castell (298) è ritornato recentemente (1958) sulla determinazione della TMA come metodo obbiettivo per classificare i pesci secondo la qualità. Le sue ricerche vertono sui merluzzi atlantici (*Gadus collarias*) e sull'Eglefino atlantico (*Melonogrammus aeglefinus*).

Un giury di degustatori ha classificato il pesce in tre categorie:

1) pesce di prima qualità;
2) pesce commerciabile;
3) pesce incommestibile.

Nel 90 % dei pesci classificati nella prima categoria il contenuto di N-trimetilamminico era compreso tra 0 e 1 mg. per 100 g. di muscolo, e il 90 % dei pesci classificati di terza categoria ne contenevano da 5 a 7 mg., pertanto conclude affermando che il valore della TMA del muscolo mostra una stretta relazione con il giudizio di qualità.

Stansby (256) ha fissato i seguenti valori limiti per la TMA nel muscolo dei pesci:

pesce fresco 0,0-0,04 mg. per 100 g.;
pesce in incipiente decomposizione 0,4-2,é mg. per 100 g.;
pesce alterato 2,0-4,0 mg. per 100 g.;
pesce putrido 4,0-10,0 mg. per 100 g.

Luijpen (253) fissa in 13 mg. per 100 g. il valore limite dell'N trimetilamminico nel merluzzo e nei filetti di merluzzo.

La determinazione della TMA come indice per stabilire la freschezza del pesce potrà assumere un interesse pratico ancora più accentuato se saranno proseguite e standardizzate le recenti ricerche di Hughes (163), che ha ottenuto risultati quantitativi applicando la cromatografia gassosa alla determinazione delle ammine presenti nella carne di pesce. Gronniger (299) ritiene che la cromatografia gassosa possa essere bene utilizzata per il frazionamento e la determinazione di specifici gruppi di metaboliti batterici, piuttosto che per il frazionamento di gruppi eterogenei.

Come per le basi volatili così pure per la TMA Shewan (171) ha cercato attraverso i risultati di numerosissimi determinazioni di mettere in relazione i caratteri organolettici con i saggi obbiettivi; per la TMA avrebbe stabilito la seguente relazione numerica tra l'odore del pesce crudo (per il quale ha stabilito una scala di valori):

$$\text{odore pesce putrido} + 0{,}47 \log. 10 (1 + \text{TMA}) = 10{,}1$$

relazione che è risultata valida per tutte le partite esaminate con una approssimazione di + 1 nella scala dei valori dell'odore (fig. 10).

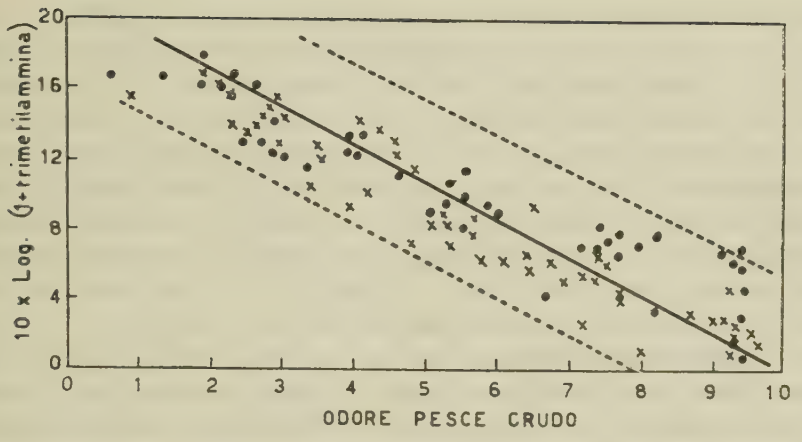


FIG. 10. — Correlazione tra l'odore del pesce ed il contenuto in trimetillammina (171).

Due parole, per chiudere questo importante capitolo, sulla DMA.

La determinazione di questo composto con il metodo di Reay (266) è ra-
do come quello della TMA, e la sua valutazione fornisce un indice obbiettivo
alterazione che si manifesta prima di qualsiasi altro. La figura 11 confronta
ndamento della DMA e della TMA del muscolo del pesce durante la con-

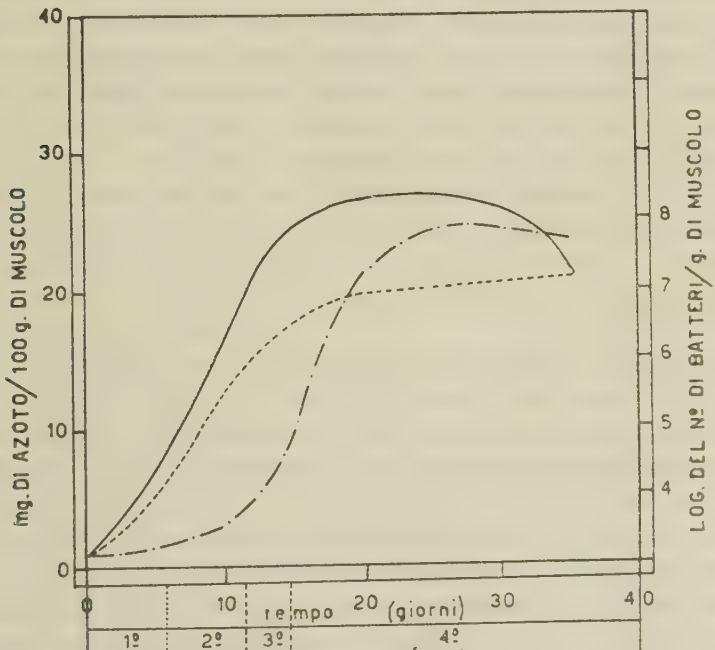


FIG. 11. — Formazione della dimetillammina e trimetillammina in relazione alla carica batterica ed alle fasi organolettiche dell'alterazione (REAY e SHEWAN 34). I valori della dimetilamina sono moltiplicati per 10.

servazione come emerge dai citati lavori di Shewan (178–255) sugli Haddocks del mare del Nord conservati in ghiaccio. Si rivela che mentre l'aumento del tenore in TMA comincia a manifestarsi dopo il 5° giorno di conservazione e procede con intensità sempre maggiore con il passare dei giorni, ed i valori si distribuiscono con andamento iperbolico, la formazione di DMA si mantiene entro valori molto più ristretti (0-4 mg. per 100 g.), ma si inizia fin dal primo giorno di conservazione per procedere poi con molta regolarità: i valori si distribuiscono all'incirca su di una linea retta. Pertanto la determinazione della DMA rappresenta, secondo Shewan, il metodo migliore finora scoperto per riconoscere una alterazione appena incipiente.

Varela e Woijeciech (300) trovano per la DMA valori massimi di 0,2 mg. per il pesce fresco e di 1,5 mg. per il pesce guasto, ritengono l'aumento di questo composto durante la conservazione può costituire un indice accettabile per seguire l'alterazione del merluzzo, ma i valori numerici sono troppo bassi e possono portare a degli errori.

Questa determinazione accoppiata con quella della TMA offre una buona misura obbiettiva della qualità in tutta la sua estensione dalla perfetta freschezza all'incipiente putrefazione.

Tarr (23) ritiene che la determinazione dell'NH_3, della $(CH_3)_2NH$ ed in particolare quella della $(CH_3)_3N$ sono di notevole importanza per formulare il giudizio di freschezza delle specie ittiche della costa Adriatica ma non per quella del Pacifico, e ritiene che questa differenza debba attribuirsi al diverso valore del pH del muscolo delle diverse specie ittiche. Per questo motivo e perchè, come abbiamo già detto, non tutti i batteri riducono l'ossido di TMA è opportuno, eseguire la determinazione di un altro indice obbiettivo, il quale se concordante dà garanzia per un giudizio sicuro.

Vedremo alla fine quale sono gli indici chimici da tenere in maggiore considerazione a questo scopo.

III – Ammino acidi.

Secondo Beatty e Collins (21–183) gli ammino acidi sono gli indici della proteolisi che si verifica nel muscolo del pesce e quindi la loro formazione si manifesta in uno stadio avanzato dell'alterazione. Questi AA. osservano un leggero aumento degli ammino acidi nei primi tre giorni di conservazione che poi restano costanti fino al 13 giorno; gli stessi risultati sono stati osservati da Brocklesby e Riddel (301) sul fletan; gli ammino acidi subiscono poi una degradazione anaerobica con formazione di NH_3.

L'avvento dei metodi cromatografici e la messa a punto ad opera di Yemm e Cocking (302), del metodo di determinazione degli ammino acidi con ninidrina, ha riportato sul tappeto lo studio degli ammino acidi che si formano durante l'alterazione del pesce con particolare riguardo ad alcuni di essi.

Hodgkiss e Jones (303) confermano che la conservazione in ghiaccio del merluzzo porta a delle modificazioni nella composizione in ammino acidi del muscolo. Per stabilire il ruolo della autolisi in queste modificazioni hanno con-

rvato asetticamente pezzi di muscolo di merluzzo a 0°, dopo 15 giorni di in-
ıbazione il muscolo è stato omogeneizzato con etanolo al 75 % per la valuta-
one cromatografica. Cromatogrammi eseguiti in serie hanno dimostrato che,
ella maggior parte degli ammino acidi liberi, si riscontrano poche differenze
spetto ai pesci conservati in ghiaccio. Dopo 15 giorni di incubazione l'acido
utammico passa da 10 a 20 mg. per 100 g. di muscolo, la b-alanina la 1-metili-
idina rispettivmente da 2,5 mg. a 66 mg. e da 6,2 mg. a 101 mg. La lisina e
leucina diminuiscono in maniera sensibile da 6,5 e 5,2 per 100 g. a meno
0,4 mg.

Queste variazioni si modificavano progressivamente durante i periodi di
ıcubazione. La taurina, la glicina ed altri ammino acidi restano ad un livello
stante. Di questi risultati solo quelli relativi alla beta alanina ed alla L-metil-
tidina si accordano a quelli ottenuti con il merluzzo conservato in ghiaccio.
li AA. concludono affermando che a parte la notevole eccezione dovuta alla
ione della anserinasi ed una certa liberazione di acido glutammico, la mag-
or parte delle modificazioni che si verificano nel merluzzo durante la con-
rvazione in ghiaccio, derivano dall'azione batterica, e ritengono che le mo-
ficazioni post-mortem, che portano alla liberazione di qualche ammino acido,
no di notevole interesse.

Miyauchi e Malins (304) hanno proceduto a determinazioni quantitative
er cromatografia bidimensionale su carta dei composti contenenti il gruppo
mminico, come ammino acidi ed ammine, che reagivano con la ninidrina e
ne si formano durante la decomposizione del pesce (merluzzo del Pacifico,
adus microcephalus) conservato in ghiaccio sia intero che triturato. Questi
A. sono pervenuti ai seguenti risultati:

1) nel pesce fresco erano presenti lisina, valina, leucina, acido glutam-
ico, glicina, taurina, prolina, alfa e beta alanina libere;

2) durante la conservazione non si osservano modificazioni nelle quan-
tà di acido glutammico, di glicina, di taurina, di prolina e di alanina;

3) la quantità di valina e di leucina diminuiscono nei campioni tritu-
ti, ma non nel pesce intero;

4) la quantità di lisina diminuisce sia nel pesce triturato che in quello
ntero.

Con il metodo usato dagli AA. non si sono riscontrati nel muscolo del
adus microcephalus altri composti che reagiscono alla ninidrina oltre gli am-
ino acidi su ricordati.

Shewan e Jones (139) hanno condotto le ricerche sugli estrattivi del muscolo
haddocks per cromatografia bidimensionale su carta usando il cloroformio
ome eluente e gli estrattivi solubili in metanolo all'80 %, dopo concentrazione
er crioessicazione.

Nelle modificazioni che si producono per autolisi durante la conservazione
el muscolo sterile a 0° si sono riscontrate piccole variazioni negli ammino acidi
beri: la glicina rimane invariata, mentre alanina e lisina diminuiscono, l'acido
utammico aumenta di oltre il 30 %, La taurina non è attaccata dall'autolisi
non si hanno variazioni nella somma: creatina+creatinina e nell'ossido di

TMA. L'anserina sparisce per azione della l'anserinasi del muscolo originando la 1-metil-istidina e la beta-alanina.

Nell'alterazione batterica del pesce conservato in ghiaccio le variazioni sono dovute a due fattori:

1) perdita per lavaggio provocata dall'acqua di fusione del ghiaccio;

2) trasformazione per azione degli enzimi sia batterici che autolitici.

La maggior parte dei costituenti azotati subisce delle perdite: le perdite di taurina sembrano dovute al lavaggio, quelle di creatina al lavaggio ed alla azione batterica. L'anserina è scissa dall'anserinasi, ma i prodotti di degradazione si ritrovano in misura inferiore al previsto (lavaggio)

Il comportamento degli ammino acidi in seguito all'alterazione batterica è ben diverso da quello per autolisi: alcuni ammino acidi mostrano una piccola diminuzione nei primi giorni dovuta forse al gocciolamento, (glicina, alanina, acido glutammico), ma poi aumentano fino al decimo giorno, poi diminuiscono nuovamente o rimangono costanti. La lisina aumenta per tutto il periodo di conservazione e particolarmente dopo il decimo-dodicesimo giorno. È probabile che questo rapido aumento finale sia causato dalla scissione delle proteine per azione dei batteri proteolitici.

Shewan e Jones ritengono che la determinazione della lisina, benchè sia piuttosto lunga, risponda ai requisiti che si richiedono ad un metodo obbiettivo per valutare la freschezza del pesce. Il contenuto in lisina del pesce fresco non deve mai superare i 30 mg. per 100 g.

Recentemente Ranke (305) si è occupato del contenuto in ammino acidi non proteici del pesce, molluschi e crostacei. Per ammino acidi non proteici si intendono gli ammino acidi liberi più gli ammino acidi dei peptidi. La determinazione viene seguita per cromatografia bidimensionale su carta. Ranke osserva che i cromatogramma degli ammino acidi non proteici, ottenuti per idrolisi acida non mostrano differenze rilevanti. Gli ammino acidi non proteici erano presenti in ragione dell'1-5 % rispetto agli ammino acidi proteici nelle diverse specie di pesce, questa percentuale saliva al 7-10 % nei molluschi ed anche al 10-12 % nei crostacei, e poichè gli ammino acidi non proteici rappresentano un ottimo substrato per lo sviluppo batterico, queste differenze giustificano la più rapida decomposizione dei crostacei rispetto ai pesci.

Esperienze condotte da Ranke sulla *Molva vulgaris*, e sul *Gadus virens* durante un periodo di conservazione di 30 giorni: a $+4^{\circ}$ - $+7^{\circ}$, hanno permesso di stabilire che durante la conservazione si ha una variazione notevole nel contenuto di ammino acidi non proteici. Alla fine dell'esperimento il contenuto iniziale era triplicato. Alcuni ammino acidi aumentano in misura maggiore di altri e precisamente leucina, isoleucina, valina, acido glutammico ed acido aspartico. Ranke ritiene che durante i primi quattro giorni di conservazione le variazioni sono dovute principalmente all'autolisi, successivamente si osserva una leggera diminuzione dovuta alla utilizzazione di questi ammino acidi liberi ad opera della flora batterica che ancora non è capace di produrre una quantità di enzimi batterici sufficienti a scindere gli ammino acidi in relazione al suo fabbisogno.

Nello studio della decomposizione del pesce sono stati presi in particolare nsiderazione alcuni ammino acidi. Per i pesci a carne rossa è stato oggetto attento esame la formazione di istamina. La letteratura a riguardo è note-lissima, e l'argomento meriterebbe di essere trattato in un capitolo a parte. limiteremo quindi a ricordare i lavori di Williams (306) mentre, accenneremo risultati ottenuti da Hillig, parlando della determinazione degli acidi latili. Williams ha determinato con il metodo biologico, proposto da Geiger 4-15) il tenore di istamina nei pesci in diverso stato di decomposizione. Lo tore descrive dettagliatamente il metodo che fornisce risultati riproducibili è basato sulla diversa reazione dell'ileo fresco di porcellino d'India regi-rata con un chimografo alle diverse concentrazioni di istamina. I risultati tenuti dimostrano che le diverse quantità di sostanze istamino-simili sono in lazione con la classificazione organolettica per il tonno e per il macarello. mbra che i pesci piccoli abbiano un tenore di istamina superiore a quello i pesci grandi. La determinazione dell'istamina viene praticata special-nte nelle conserve di pesce ed il tenore è basso nelle buone conserve. Secondo imata e coll. (199) quando la determinazione è già accertabile organoletti-mente, il contenuto di istamina nella carne si mantiene ad un livello inferiore 5 mg. per 100 g., indipendentemente dalla temperatura di conservazione.

Esistono anche metodi chimici di determinazione dell'istamina: alcuni no basati sulla reazione dell'istamina con una ammina aromatica diazotata, referibilmente p-nitro-aniilna, reazione che porta alla formazione di un colo-nte azoico:

$$NO_2C_6H_4NH_2 + NaNO_2 + 2HCl \rightarrow NO_2C_6H_4N = NCl + 2H_2O + NaCl$$

p–nitroanilina — diazoderivato

$$NO_2C_6H_4N = NCl + H_2N - CH_2 - CH_2 - C_3N_2H_3 \rightarrow$$

diazoderivato + istamina

$$\rightarrow NO_2C_6H_4N = NHC_2 - CH_2C_3N_2H_3$$

sostanza colorante rossa

La colorazione ottenuta può essere misurata spettrofotometricamente 07-308).

Hughes (198) applica questa reazione alla determinazione dell'istamina olandola prima per cromotografia su carta rilevandola con acido solfanilico nitrito di sodio, eluendola successivamente con acetone al 50% e determi-ando l'intensità di colore colorimetricamente; l'A. prepara una curva stan-ard cromotografando allo stesso modo soluzioni contenenti da 0 a 30 gamma istamina che venivano determinati con una approssimazione del 10%.

Ota in un suo recente lavoro (309) procede alla diazotazione dell'istamina sando la p-nitro-anilina come agente di diazotazione ed estraendo il diazo-mposto con etere acetico che scioglie solo il derivato istaminico e non quello tidinico.

Infine McIntire e coll. (310) hanno proposto come mezzo diazotante il 4-dinitrofluorobenzene che è più sensibile e da origine a derivati più stabili.

Secondo Williams (306) i metodi chimici di determinazione dell'istamina hanno bisogno di essere ulteriormente approfonditi.

Anche il dosaggio della tirosina sembra essere ugualmente suscettibile di una applicazione generalizzata, ma non se ne conoscono esattamente i limiti di applicazione. Allo scopo di studiare il corso della proteolisi autolitica Bradley e Bailey (182) svilupparono la reazione cromatica della tirosina. Il reattivo fosfo-molibdico adoperato sviluppa una colorazione blù in presenza di tirosina (sia libera che in forma di peptide), di triptofano e di cisteina, quindi potrebbe servire come misura della demolizione delle proteine, reagisce però con qualsiasi altro riducente (solfidrile incluso H_2S) e con i fenoli. Il saggio non è affatto specifico per la proteolisi, ma il numero di tirosina è stato ritenuto da Bradley e Bailey (182), da Tarr e Bailey (311), da Wood e all. (121) e da Sigurdsson (167) un indice di degradazione autolitica e batterica delle proteine. Questi ricercatori hanno applicato questa reazione allo studio della deteriorazione di carpe, aringhe, salmone rosa, merluzzo e passere a diverse temperature. Nel suo insieme si è riscontrato che il numero di tirosina (1) aumenta in modo regolare durante l'intero periodo di conservazione che va dal rigor-mortis alle condizioni di completa putrefazione. Secondo Reay e Shewan (34) il metodo non sembra adatto per una valutazione della qualità del pesce perchè i valori sono troppo fluttuanti. Varela e Wojciech (360) applicano la reazione di Folin e Ciocaltoon (312) e trovano nel merluzzo fresco da 5 a 18 mg di tirosina.

Ota (313) propone un metodo colorimetrico e un reattivo al fenolo per la determinazione della tirosina e mette in rilievo che la tirosina aumenta in modo rilevante con il diminuire della freschezza.

Luijpen (314) ha sperimentato su aringhe olandesi salate ed ha rilevato che le variazioni di tirosina erano in relazione con il tenore in sale, la durata e la temperatura di conservazione.

IV – Gli acidi volatili.

La formazione di acidi organici può avvenire attraverso le aldeidi ed i chetoni, gli ammino acidi e le ammine. Se la determinazione della TMA è un efficiente criterio di giudizio per determinare la freschezza del pesce, e se la TMA si forma secondo lo schema Watson (vedi prima parte) la determinazione del substrato ossidato dovrebbe costituire un metodo di indagine altrettanto utile; poichè nella carne di pesce il datore di idrogeno è l'acido lattico che si ossida ad acido acetico, anche la determinazione dell'acido acetico potrà essere una ricerca interessante, e difatti Suzuki (3115) applicò un criterio simile al muscolo della sardina ed ottenne un risultato positivo. Sigurdsson (167) stabilisce in 60 ml di acido N/100 per 100 g il limite di commestibilità.

---

(1) mg. di tirosina per % g. di pesce.

Ma senza dubbio sono stati Hilling e la sua scuola a lavorare intorno l'indice degli acidi volatili come metodo di valutazione della qualità del esce e dei prodotti della pesca fin dal 1938 (147), successivamente hanno ubblicato sull'argomento numerosi lavori fra i quali segnaliamo quelli più centi (316-317-318). Questo A. ritiene che nello studio dei metodi chimici er il riconoscimento dei prodotti di alterazione del pesce e dei prodotti della esca la determinazione degli acidi volatili, in gruppo o individualmente, ppresenta un mezzo efficace per stabilirne l'alterazione. È noto che l'acido uccinico è un prodotto intermedio di certi sistemi enzimatici naturali (319), illing ne precisa il metodo di determinazione (320) ed afferma che questo cido è assente o presente in tracce nel pesce fresco mentre può essere pre-nte in grande quantità nel pesce alterato. Hilling rivolge la sua attenzione n solo alla determinazione dei singoli acidi (formico, acetico, propionico e utirrico) ma stabilisce anche un numero degli acidi volatili rappresentato l numero dei centimetri cubici di alcali N/100 richiesti per la neutralizza-one di 200 ml di distillato ottenuto in corrente di vapore da un estratto quoso di 25 g. di pesce, moltiplicato per 4 per riferirli a 100 g. di pesce. Hilling (317) si è occupato in un primo tempo di ricercare questi indici di decomposizione dei tonni. Egli si riferisce ad una classificazione organoletti-ca secondo la quale le classi 0 ed 1 comprendono il pesce fresco, e la classe il pesce stantio. I tonni appartenenti a queste classi contengono piccole uantità di acidi volatili, mentre nelle classi successive (pesce guasto) se ne scontrano quantità elevatissime, anche per l'acido acetico nelle classi 1 e 2 trovano valori bassi, simili a quelli degli acidi volatili; non si riscontrano uantità dosabili di acido formico finchè non si arriva alla classe 3, la classe 2 ontiene piccole quantità di acido succinico, e le classi 1 e 2 contengono tracce i istamina che aumenta pure, rapidamente, nelle classi successive. Tra le arie specie di tonno non si hanno differenze molto sensibili. I risultati sono accolti nella seguente tabella:

	Classe	SKIPJACK	BLEUFIN	YELLOWFIN
Numero acidi volatili	1	33	62	26
Numero acidi volatili	2	49	62	49
Acido formico	1	0	tr	tr
Acido formico	2	0	tr	tr
Acido acetico	1	tr	26	tr
Acido acetico	2	tr	26	tr
Acido succinico	1	0	0	0
Acido succinico	2	tr	0	0
Istamina	1	tr	3	1
Istamina	2	3	3	11

(I risultati sono espressi, per il numero di acidi volatili, in ml. di NaOH–N/100 per 100 g. di muscolo, ed in mg. per 100 g. per i singoli acidi).

Successivamente Hilling e coll. (318) hanno studiato le alterazioni dei gadidi controllando anche la produzione dell'alcool (321) e dell'istamina. Mentre non ottengono risultati differenziati per quanto concerne la determinazione dell'alcool, per l'istamina, in accordo con gli AA. precedentemente citati e con i loro precedenti lavori, concludono che questo composto è assente in tutti i campioni di pesce fresco e che se ne trovano tracce solo nei campioni di pesce stantio. Per gli acidi volatili Hilling ha trovato nel merluzzo i seguenti valori per il pesce fresco e per quello stantio (come al solito i valori sono espressi per il numero degli acidi volatili in ml. di NaOH N/100 per 100 g. di pesce, e in mg. per 100 g. di pesce per i singoli acidi):

	Pesce fresco		Pesce stantio	
	massimo	medio	minimo	medio
Numero acidi volatili (VAV)	39	6	47	127
Acido formico	tr	–	tr	27
Acido acetico.....	31,9	4	35,1	82
Acido succinico.....	5,9	3	3,2	14

Come si osserva dai dati su esposti per il merluzzo fresco, il numero degli acidi volatili può rappresentare un valore massimo eccezionale di 39 (media 6) ma il pesce stantio presenta un minimo di 47 con una media di 127, tra i valori massimi del pesce fresco ed i minimi di quello stantio esiste uno scarto tale da consentire un giudizio di qualità indipendentemente da errori sperimentali, viceversa per le altre determinazioni (acido formico, acetico e succinico) i valori medi sono nettamente differenziati ma vi è interferenza fra i valori massimi e minimi del merluzzo fresco e stantio. Hilling conclude affermando che è opportuno basare il giudizio esclusivamente sul numero degli acidi volatili (VAV). Sul metodo di determinazione di questo indice vi ha intrattenuto lo scorso anno in questa stessa sede il dr. Jacone (322).

Asakawa (323) ha proposto un metodo differenziale per esprimere il giudizio di qualità del pesce attraverso la determinazione degli acidi volatili. Secondo l'A. gli acidi volatili della carne di pesce possono essere allo stato libero o combinato: nel caso del pesce fresco si ha un aumento di acidità verso la fine della distillazione perchè gli acidi combinati distillano per ultimi, nel caso del pesce alterato diminuisce la quantità di acidi combinati ed aumenta quella di acidi liberi quindi le prime frazioni del distillato sono più acide. Pertanto Asakawa distilla in corrente di vapore 20 g. di pesce addizionato di 100 ml. di H_2SO_4 al 5% e raccoglie 100 ml. di distillato in due frazioni da 50 ml; se si fa eguale a cento l'acidità della prima frazione, quella della seconda sarà 140-150 nel caso del pesce fresco, 55-80 nel caso del pesce in via di alterazione, 19-34 nel caso di pesce guasto. In un suo successivo lavoro (324) parla di un vero e proprio rapporto di distillazione tra l'acidità della seconda e della prima frazione, questo rapporto è superiore a 130 per il pesce

eccellente, è compreso tra 100-130 per il pesce fresco, tra 90-100 per il pesce stantio, tra 80-90 per il pesce in incipiente alterazione, tra 70-80 per il pesce alterato ed è inferiore a 70 per il pesce in avanzato stato di alterazione. Secondo Asakawa questa scala è valida non solo per i teleostei ma anche per squali, razze e seppie.

Orlandi (325), nel nostro Laboratorio, ha controllato questo metodo pervenendo alla conclusione che il criterio proposto da Asakawa non risponde per i pesci della nostra fauna ittica, d'altra parte non possiamo convalidare l'ipotesi emessa da Asakawa per interpretare i risultati da lui ottenuti in quanto ci sembra più logico pensare che con la putrefazione del pesce si abbia innanzitutto una produzione ex-novo di acidi volatili. Pertanto condividiamo il punto di vista di Hilling di determinare la quantità assoluta degli acidi volatili.

– Determinazione delle sostanze volatili che riducono il permanganato.

Per primi Strohecker ed all. (326) hanno misurato la freschezza della carne di pesce valutando la quantità della sostanze presenti nel distillato di muscolo di pesce che riducono il permanganato in soluzione neutra. Tomiyasu ed all. (327) misurarono nel distillato la riduzione del permanganato in ambiente acido e trovarono che la curva del consumo di permanganato era più acuta di quella dell'azoto basico volatile. Ma lo studio di questo metodo obbiettivo per la valutazione della qualità del pesce è legato al nome di Farber e della sua scuola. Farber fin dal 1949 (328) ha proposto la determinazione delle sostanze volatili riduttrici (SVR) nel distillato ottenuto per reazione dal succo di muscolo impiegando il permanganato in soluzione alcalina ed esprimendo i risultati in microequivalenti di ossigeno consumati da 5 ml di succo. Il metodo è il seguente (82): il succo ottenuto per pressione di una conveniente quantità di pesce crudo, si centrifuga per ottenere una parte acquosa chiara, 5 ml della quale si introducono in un palloncino chiuso con tappo a due fori. L'aria del Laboratorio purificata per gorgogliamento in acqua distillata, in 3 successivi fiaconi di $KMnO_4$ 1,5 N, in una soluzione di Na OH 2/N, passa infine in due flaconi contenenti lana di vetro e viene aspirata nel palloncino contenente succo di muscolo, si fanno passare 72 litri di aria in 40 minuti, che successivamente passano in una bottiglia di assorbimento contenente un eccesso di $KMnO_4$ titolato, le sostanze volatili contenute nel campione sono trattenute nel reattivo ossidante ($KMnO_4$ 0,02/N in soda N). Si determina l'eccesso di $KMnO_4$ rimasto nella bottiglia di assorbimento e la quantità di $KMnO_4$ ridotta, espressa in microequivalenti, rappresenta il tenore in sostanze volatili riduttrici (VRS) del campione; si esegue contemporaneamente una prova in bianco.

Farber (329), Farber e Cederquist (230), Farber e Ferro (321), ed infine recentemente Farber e Lerke (332) hanno ampiamente riferito sul metodo delle sostanze volativi riduttrici (VNS) come indice di qualità del pesce, metodo

che ha avuto largo seguito nell'America del Nord. Secondo questi AA. l'alterazione del pesce è un processo che presenta parecchi aspetti ed implica un certo numero di fattori che influiscono notevolmente nel quadro deteriorativo e quindi sulla metodologia applicabile.

Tra i fattori che debbono essere presi in considerazione per discutere circa i metodi da usare per la valutazione obiettiva della freschezza del pesce e dei crostacei marini, sono, come abbiamo visto: la specie del pesce con la quale sono collegate differenze di struttura e di composizione, i trattamenti subiti dal pesce, le modificazioni della flora batterica riscontrata nell'ambiente vicino al pesce durante la deteriorazione, la temperatura di conservazione, ecc. Tutti questi fattori, spesso in rapporto tra loro, influenzano moltissimo il quadro della deteriorazione.

Primaria importanza assume la diversità della flora batterica associata con la deteriorazione, come risulta dalla seguente tabella:

TRATTAMENTO DEL TONNO	% DI BATTERI CHE PRODUCONO			
	Idrolisi dei grassi	Idrogeno solforato	Indolo	Fusione della gelatina
Pescato localmente ed appena sbarcato	48	55	0	61
Portato a terra dopo conservazione in ghiaccio	21	67	19	37
Portato a terra dopo congelamento in acqua di mare	45	45	0	21
120 microorganismi isolati dal tonno che si sviluppano a — 1°	45	5,6	8	49
Microrganismi 22 che si sviluppavano a — 2°,8	41	50	4,5	41

Di conseguenza un metodo per valutare la freschezza e la qualità del tonno che si fondasse sulla presenza dell'H_2S, di acidi volatili o di indolo sarà attendibile per una percentuale di casi variabile nel tempo e dipendente dalla presenza dei particolari batteri responsabili di quell'indice chimico.

Un'altra prova della interdipendenza fra la flora batterica ed un indice chimico si riscontra nella TMA. A parte il fatto che non tutti i pesci contengono TMAO, esiste una differenza nel contenuto di trimetilammino-ossidasi tra i diversi batteri, e pertanto, anche se l'ossido é presente, debbono essere presenti anche i microorganismi che lo riducono a triamina perchè sia possibile ottenere una reazione positiva per la TMA. I tentativi fatti per escogitare metodi chimici atti a scoprire e misurare l'estensione della deteriorazione si sono in massima parte orientati verso lo sviluppo e l'impiego di procedimenti analitici sia per un prodotto terminale specifico (trimetilammina, ammoniaca, ecc.) sia per un gruppo di sostanze similari (sostanze azotate volatili, acidi volatili, ammino acidi, ecc.). Pertanto l'applicazione di questi metodi ha ottenuto successi variabili da parte dei diversi ricercatori e generalmente non si sono dimostrati soddisfacenti per un impiego generalizzato.

Premesso che i limiti di applicazione dei cosidetti metodi obbiettivi sono basati sul giudizio organolettico, Farber e coll. basano la loro valutazione sulla determinazione di tutti i composti volatili trai quali sono compresi carbonili, composti basici dell'azoto, acidi volatili, idrogeno solforato, ecc. Di conseguenza cercano di riprodurre con mezzi chimici la percezione sensoriale olfattiva di questi o di altri composti volatili nello sviluppo dell'alterazione. Il quantitativo di $KMnO_4$ ridotto è usato come misura delle sostanze volatili originariamente presenti nel pesce e che ne caratterizzano l'odore.

Gli AA. per dimostrare che il metodo delle SVR può essere considerato come un metodo obbiettivo sicuro per valutare quantitativamente la freschezza del pesce crudo, applicabile a molte specie di pesci ed a pesci trattati in modi diversi, hanno determinato le sostanze volatili riduttrici, le sostanze azotate volatili, l'azoto trimetilamminico, il numero dei batteri e gli acidi grassi volatili in pesci a carne bianca magra, in pesci a carne bianca relativamente grassi, in pesci pelagici, in pesci grassi a carne rossa, in pesci salati, in pesci affumicati, in molluschi ed in crostacei. Per i pesci a carne bianca le modificazioni chimiche procedono di concerto con il numero dei batteri, ma il contenuto in SVR è certamente un indice migliore e più sicuro dello stato di freschezza e si avvicina di più alla valutazione organolettica di quanto non facciano gli altri indici, compresa la determinazione della carica batterica. Anche nel pesce pelagico i valori della SVR mostrano una più stretta correlazione con il giudizio organolettico di quanto non faccia la determinazione dell'azoto basico volatile. Anche per gli altri pesci e per gli altri prodotti è evidente l'aumento del contenuto in SVR durante la conservazione specialmente quando è iniziato il deterioramento. Questa determinazione ha il vantaggio di misurare non la quantità di questo o quel prodotto di alterazione, ma di tutto il complesso dei composti di alterazione volatili; non misura il composto originato da questa o quella specie batterica, ma i prodotti originati dal metabolismo di tutto il complesso della flora batterica. Si può ritenere che questa determinazione riproduca con mezzi chimici la percezione sensoriale olfattiva dei composti volatili associati allo sviluppo dell'alterazione; il permanganato ridotto misura tutte le sostanze volatili presenti nel muscolo e che contribuiscono a determinare l'odore del pesce, ma non le differenzia, pertanto è comprensibile la normale intima correlazione tra l'intensità dell'odore ed il contenuto di SVR. Tuttavia gli AA. non pensano che il metodo debba considerarsi perfetto ed infallibile.

Farber e coll. nei loro lavori riportano centinaia di risultati analitici ottenuti applicando la determinazione delle VSR e molte specie di pesce, fresco e conservato in diversi modi. Ne raccogliamo alcuni nelle tabelle n. 13 e 14, confrontando i risultati con quelli ottenuti dalla contemporanea determinazione dell'azoto volatile e trimetilamminico. Nelle tabelle i valori delle SVR sono espressi in microequivalenti di riduzione per 5 ml di succo di pesce, lo azoto volatile totale (AVT) e l'azoto trimetilamminico (ATM) in mg per cento grammi di succo.

TABELLA N. 13

Valori per le sostanze volatili riduttrici e per l'azoto volatile totale e trimetilamminico nei pesci freschi

MATERIALE ANALIZZATO	Giorni di conservazione	Giudizio organolettico	VSR	ATV	ATM
Filetti di sogliola conservati a + 5°	0		4,0	0,3	0
	1		4,5	3,6	0
	2		6,3	2,2	0
	3		6,3	2,6	0,6
	4 1/2	alterato	27,0	9,0	5,0
Filetti di merluzzo conservati a + 9°	0		10,0	7,4	0
	2		9,6	11,1	2,5
	4	alterato	31,0	29,5	24,0
Filetti di haddock del commercio	—	passabili	10,8	16,5	4,5
		non passabili	22,7	27,2	15,1
Scorfani a + 2°.7	0		11,2	5,8	0
	1		8,4	5,0	0
	4		7,4	4,3	0,2
	6	alterato	29,0	27,7	24,6
Aringhe del Pacifico conservate tra + 5° e + 10°	0		3,5	3,6	0
	1		1,5	1,6	0
	2		5,0	1,8	0
	3		11,5	—	1,4
	4		18,0	7,4	3,4
	5	alterato	29,5	14,2	7,0
Tonno Bluefin conservato a + 24°	0		10,6	38,0	0,3
	5 ore		12,5	35,5	0,7
	10 ore		14,0	34,5	1,3
	14 ore		19,0	32,0	1,2
	18 ore		24,2	33,0	1,8
	22 ore	alterato	33,5	32,5	3,8
Maccarello del Pacifico conservato a + 26°	0		5,0	6,0	—
	2 ore		6,5	6,8	—
	6 ore		19,0	16,5	—
	12 ore	incip. alteraz.	22,5	19,2	—
	15 ore	alterato	67,5	26,0	—
Sardine (Pilchardus) conservate a + 21°	0		12,0	—	—
	10 ore	incip. alteraz.	20,0	—	—
	21 ore	alterato	47,0	—	—

Dai dati delle tabelle emerge il più netto distacco dei valori delle SVR el passaggio dalle qualità commestibili a quelle non commestibili rispetto a uelli ottenuti determinando le sostanze azotate e l'azoto trimetilIamminico.

Tabella N. 14

Valori per le sostanze volatili riduttrici e per l'azoto volatile totale e trimetilamminico nei pesci inscatolati

MATERIALE ANALIZZATO	Giudizio organolettico	VSR	ATV	ATM
ardine in salsa di pomodoro	passabile	23,7	44,3	6,5
	non passabile	61,4	33,7	2,8
cciughe California al pomodoro	passabile	31,6	58,2	19,3
	non passabile	43,3	58,5	18,7
cciughe al pomodoro.....	passabile	21,7	48,7	18,9
	non passabile	41,2	54,5	19,2
ringhe del Pacifico al pomodoro	passabile	26,0	52,3	23,7
	non passabile	60,4	51,0	25,7
ringhe dell'Atlantico al pomodoro	passabile	29,0	78,0	44,0
	non passabile	45,8	88,4	44,7
accarello del Pacifico al naturale	passabile	12,2	54,4	15,6
	non passabile	43,4	66,1	18,3
ardine California al naturale	passabile	8,7	49,8	9,3
	non passabile	36,3	50,3	11,3
ardine California al pomodoro	passabile	23,2	42,8	9,6
	non passabile	44,3	39,5	10,0
onno all'olio	passabile	13,3	60,0	3,4
	non passabile	29,8	83,6	4,6

In base ai risultati di Farber e coll. si può assumere 16 come valore li- ite per le SVR nel pesce commestibile. Per il pesce conservato i valori sono ù elevati ma si deve tener conto del condimento che contribuisce ai carat- ri organolettici ed olfattivi del prodotto confezionato e quindi alla formazione sostanze volatili che riducono il permanganato. Infatti nel tonno all'olio, lle sardine e nel macarello al naturale i valori ottenuti per le SVR sono rfettamente normali.

Schmist e Mayoh (333) non concordano con le conclusioni di Farber e coll. ed hanno accertato che quando l'indice SVR supera 30 il pesce è sempre incommestibile ma che non sempre per il pesce guasto si ottengono valori elevati, mentre per i pesci in buono stato di conservazione i valori erano discordanti tra di loro.

Esperienze condotte nel nostro Laboratorio dal Dott. D'Orazio non hanno dato risultati soddisfacenti, ma il metodo sarà riesaminato usando l'apparecchiatura approntata da Farber (334-335).

VI – Altri metodi chimici di valutazione della freschezza del pesce.

a) *Metodo iodometrico.* — Truttwin (336-337-338) ha riferito che durante l'alterazione del pesce la capacità del muscolo a combinarsi con lo iodio varia a causa della decomposizione dei vari costituenti del muscolo. Ciò è particolarmente vero per le proteine, nelle quali sono implicate principalmente reazioni additive sebbene in alcuni casi particolari possano manifestarsi anche reazioni di sostituzione. Egli applicò il metodo della titolazione iodometrica basata su questo principio, alla valutazione della qualità del pesce.

Il metodo proposto è il seguente: il muscolo di pesce viene accuratamente mescolato e triturato, g. 1 di questo campione medio viene introdotto in un matraccio da 100 ml a tappo smerigliato, addizionato di 42 ml. di acqua e 8 di acetone, si agita per 1'. Successivamente da una buretta si lascia sgocciolare una soluzione di iodio che contiene g. 0.80 o g. 1,6 di iodio per litro, previa aggiunta di 10 goccie di salda d'amido all'1%. La soluzione di iodio viene aggiunta inizialmente a 0,5 ml. per volta, dopo una aggiunta si agita per 15″ e si seguita ad aggiungere iodio fino a quando non si ottiene una colorazione bleu violetta stabile e che persiste per 15'. Verso la fine lo iodio viene aggiunta due goccie per volta. Nei pesci magri un consumo di 7 ml. della soluzione più concentrata di iodio è inizio di incipiente alterazione ed il pesce si deve rifiutare, per i pesci grassi il limite può arrivare ad 8 ml.

Esperienze con questo metodo sono state eseguite in questo Laboratorio dal Dott. Orlandi (339) usando una soluzione N/100 di iodio (g. 1,27 di iodio per litro), con varie specie conservate in ghiaccio. Durante le prime 48 ore di conservazione per nessuna delle specie ittiche sperimentate (merluzzo, busbane, sgombri, sarde, alici, ecc.) si è avuto un consumo superiore ai 7 ml di iodio N/100, successivamente il consumo di iodio è salito e dopo 144 ore supera in quasi tutti i casi i 10 ml. Esiste quindi senza dubbio una certa relazione tra il consumo di iodio ed il periodo di conservazione in ghiaccio, ma il dilavamento del pesce prodotto dal ghiaccio fondente (nelle esperienze di Orlandi il pesce era contenuto in sacchetti di polietilene) interferisce naturalmente nei risultati.

b) *Reazioni di precipitazioni.* — Amano e Utiyama (340) ed Amano (38-341) proposero un metodo semplice e rapido per misurare la freschezza mediante la precipitazione dell'estratto acquoso del muscolo di pesce con cloruro

ercurico. Secondo gli AA. questo metodo, originariamente introdotto da Walewicz (342) per l'esame della freschezza del manzo crudo, dava affidamento er l'identificazione della decomposizione della carne di pesce. Nel primo stadio della decomposizione del muscolo di pesce il cloruro mercurico reagisce rincipalmente con le proteine perchè naturalmente le proteine accompagnate d alcuni ammino acidi rappresentano il costituente principale dell'estratto. a quantità totale del precipitato in questo stadio è piccolo. Col progredire ella deterioriazione della carne, composti inferiori dell'azoto, prodotti dalla ecomposizione della carne, tendono in parte ad influire sulla reazione del loruro di mercurio. Pertanto la reazione del cloruro mercurico, che sta in stretto apporto con la quantità dei composti inferiori dell'azoto, serve ad indicare grado di alterazione della proteina del muscolo.

Questo metodo non può essere applicato allo squalo ed alla seppia.

Il metodo originale proposto da Walkiewicz è il seguente: i reattivi sono olto semplici ed economici: due soluzioni (n. 1 e n. 2) di cloruro mercuco all'1 ‰, una delle quali (n. 2) acidificata con il 0,5 per mille di acido etico.

Il procedimento è ancora più semplice: in due provette si introducono ml delle due soluzioni n. 1 e n. 2; si prepara intanto un estratto di carne attando 5 g. di carne finemente triturata con 50 ml di acqua distillata per 30' temperatura ambiente agitando energicamente e di frequente; si filtra e ue o tre gocce del filtrato vengono aggiunte in ognuna delle due provette. e la carne in esame è alterata, anche se l'alterazone è incipiente, si forma n intorbidimento nubecolare che lentamente si deposita al fondo della provetta; viceversa il liquido della provetta rimane limpido nel caso di carne in uono stato di conservazione.

Amano e Utiyama (340) lo hanno applicato alla carne di balena e di tonetto (*Katsuwonus pelamis*). Questi AA. usano però due soluzioni di cloruro ercurico all'1 % anzichè all'1 per mille, di cui una acidificata, come nel metodo iginale, con il 0,5 per mille di CH_3COOH. Essi hanno trovato che l'estratto di uscolo di pesce alterato produce un precipitato in entrambi i reattivi. Amano 38) in un successivo lavoro conferma i precedenti risultati e valuta la reaone nel modo seguente secondo la quantità del precipitato che si forma:

a) nessuna torbidità: pesce fresco;

b) leggera torbidità che compare con lo scuotimento: inizio di decomposizione;

c) torbidità, che si estende con lo scuotimento a tutta la soluzione, e orta alla formazione di un precipitato: avanzata decomposizione.

Lo stesso A. (343) è tornato recentemente sullo stesso argomento e conrma gli ottimi risultati della prova di precipitazione con cloruro mercuco, che attualmente sarebbe messa in pratica dagli Ispettori di Sanità del iappone.

Amano ritiene che questo metodo, insieme alla misura del pH ed alla eterminazione dell'ammoniaca, sia uno di quelli applicabili nella pratica rrente.

In Italia Buffa e Ambonelli (344) hanno confermato l'attendibilità della prova di Walkiewicz sia per il tonno e lo sgombro freschi, sia per gli stessi conservati o con la congelazione o sott'olio.

Nel nostro Laboratorio questo metodo è stato studiato a fondo dal dott. Orlandi (345 e 346) che ne ha riferito anche alle III Giornate Veterinarie della Fiera della Pesca. Egli è giunto alle seguenti conclusioni:

1) si riscontrano differenze sostanziali nel risultato del saggio di Walkiewicz nelle diverse specie di pesci: nei gadidi, per i quali il pH dell'estratto muscolare è vicino alla neutralità, si manifesta sempre un precipitato qualunque sia lo stato ed il tempo di conservazione; viceversa i clupeidi, il cui estratto muscolare è decisamente, seppur debolmente, acido, la formazione di precipitato è scarsa, ma abbastanza corrispondente allo stato di conservazione;

2) particolarmente incerti sono i risultati nel periodo più critico del giudizio, cioè con il pesce in bilico fra la commestibilità e la incommestibilità, quando invece la validità del saggio dovrebbe maggiormente manifestarsi;

3) nei clupeidi si nota un leggero incremento di precipitato con il periodo di conservazione, e forse, con il tempo la reazione diventerebbe nettamente positiva, come hanno constatato per il tonno Amano ed Utiyama al nono giorno di conservazione, ma evidentemente il saggio, in queste condizioni, perde ogni valore pratico;

4) per alcune specie ittiche, ed in modo particolare per i molluschi, la prova di Walkiewicz decorre nel senso desiderato.

Si può quindi concludere che il saggio di Walkiewicz può essere utilizzato solo in alcuni casi come metodo di accertamento del grado di freschezza dei prodotti ittici, il che toglie molto valore alla prospettata praticità del saggio.

Un'altra reazione di precipitazione è stata proposta da Sasaki e Fujimaki (347) i quali dimostrarono che la diminuzione della freschezza causa nel pesce una modificazione nei confronti del gruppo attivo delle proteine, a causa della denaturazione, e porta alla formazione di un precipitato quando si aggiunga una soluzione di formalina all'estratto acquoso del muscolo; l'estratto, che da principio è trasparente, diventa gradualmente torbido e precipita e si coagula con il procedere della deteriorazione. Gli AA. dichiarano che questo metodo è applicabile per la valutazione della carne di tonno.

c) Indici di alterazione dei grassi. — Per i pesci grassi sono stati presi in esame anche gli indici di alterazione che può presentare questa categoria di composti. La maggioranza degli AA. si è orientata verso la determinazione della rancidità con il metodo all'acido tiobarbiturico. Questo metodo è stato proposto per la prima volta da Bernheim e coll. (348) ed è stato molto studiato come misura del grado di ossidazione dei grassi alimentari. La reazione si basa sulla produzione di una sostanza colorante rossa che si forma per reazione a caldo tra l'acido tiobarbiturico e la dialdeide malonica, prodotto di

ssidazione di molti grassi non saturi. Questa sostanza colorante presenta un assimo di assorbimento a 535 millimicron, e si presta a determinazioni quantitative.

La reazione è stata applicata ai pesci per la prima volta da Fridriksdottir 349) che la sperimentò con le aringhe, l'A. non riscontrò il saggio molto sicuro ome misura qualitativa del grado di ossidazione.

Yu e Sinnuber (350) applicarono il metodo direttamente alla carne di esce senza procedere all'estrazione dei grassi ed ottennero risultati riproduibili arrivando a stabilire una relazione fra il gusto e l'intensità della reazione l'acido tiobarbiturico. Questi AA. esprimono i risultati in milligrammi di ldeide malonica per 1000 g di carne di pesce, usando come riferimento una rva standard ottenuta con l'1-1-3-3-tetraetossipropano. Il metodo è stato pplicato anche alle ostriche da Schwartz e Watts (351).

Reay e Stansby (352) stabilirono una relazione fra i valori della reazione l'acido tiobarbiturico e l'irrancidimento determinato organoletticamente. nando l'irrancidimento era appena incipiente si ottenevano, al massimo, alori corrispondenti a 2-3 mg di aldeide malonica per 1000 g di pesce, questo alore saliva a 4,6 per un irrancidimento leggero ed a 7,8 mg per un irrancimento spinto. Questa reazione assume particolare importanza nei pesci sotposti a conservazione frigorifera, perchè, come è noto, questo mezzo di conervazione blocca i fenomeni degradativi delle sostanze proteiche, rallenta, a non impedisce, i fenomeni alterativi delle sostanze grasse.

d) Attività adenosintrifosfatasica e ribosio. — Abbiamo già visto nella rima parte di questa relazione che durante la conservazione del pesce, per zione di una adenosintrifosfatasi si libera ribosio dai nulceotidi adenosinici resenti nel muscolo e la determinazione del ribosio liberato può costituire, econdo Shewan e Jones (139) un ottimo metodo obiettivo per la valutazione ella freschezza del pesce. I nucleotidi adenosinici sono precipitati con aceato di Bario in soluzione etanolica all'8 per mille e pH 8,2. È quindi suffiente procedere alla determinazione del ribosio in un estratto di muscolo rattato con acido tricloracetico, prima e dopo il trattamento con Bario, er stabilire il grado di defosforilazione raggiunto. Al 5° giorno di conservaone quasi tutto il ribosio è già presente in forma non precipitabile, ed il 0-95% del ribosio non precipitabile è presente nella soluzione sotto forma di osina. Secondo Shewan e Jones un pesce per essere ritenuto fresco deve ntenere ancora almeno il 20 % di ribosio in forma precipitabile, cioè non disciato dalla adenosintrifosfatasi.

e) *Glicogeno epatico.* — Abbiamo accennato nella prima parte della presente lazione al fatto che il glicogeno presente nel muscolo e nel fegato dei pesci ene distrutto rapidamente subito dopo la morte del pesce.

Ci è sembrato interessante, quindi, determinare la quantità di glicogeno resente nel fegato e nel muscolo dei pesci immediatamente dopo la morte successivamente ad intervalli determinati, per stabilire se la trasforma-

zione del glicogeno si realizza a velocità tale da poter servire di base alla determinazione dello stato di conservazione del pesce.

Su questo argomento riferiranno ampiamente in questa sede uno di noi (Testa) e la dottoressa Simongini (327-*bis*) (1).

Premesso che la quantità di glicogeno presente nei muscoli è troppo piccola per servire di base ad un giudizio di commestibilità, almeno usando i consueti metodi di ricerca macrochimici, possiamo affermare viceversa che la quantità di glicogeno riscontrata nel fegato delle specie ittiche esaminate è sufficiente per seguire la sua evoluzione nel tempo.

Il glicogeno è stato determinato per estrazione acquosa, seguita da una idrolisi con HCl concentrato per 30 minuti e successiva determinazione degli zuccheri riduttori sia secondo Bertrand che con il metodo colorimetrico allo antrone proposto da Dreywood (352-*bis*).

La determinazione del glicogeno come indice obbiettivo per stabilire la freschezza del pesce presenta due vantaggi:

1) la velocità del processo di glicogenolisi è superiore a quello della proteolisi;

2) il fatto che sia sufficiente la semplice determinazione qualitativa degli zuccheri riduttori.

Infatti, come emerge dalla seguente tabella n. 15, il glicogeno scompare completamente, nella maggior parte dei casi, dopo 72 ore e pertanto basta accertare la presenza nel fegato di glicogeno in quantità rivelabili con i metodi da noi proposti, per concludere che il pesce in esame è fresco o freschissimo.

Purtroppo la determinazione del glicogeno epativo non è sempre praticabile perchè molti pesci arrivano sui mercati sviscerati e pertanto sarebbe opportuno rendere più sensibile la ricerca del glicogeno per poter usufruire a scopo diagnostico delle piccole quantità di glicogeno presente nei muscoli.

Ricerche in questo senso sono in corso nel nostro laboratorio.

VII – Reazioni cromatiche.

Delle numerose reazioni cromatiche proposte per giudicare la freschezza del pesce ci intratterremo solo su quelle che sono state controllate nel nostro laboratorio.

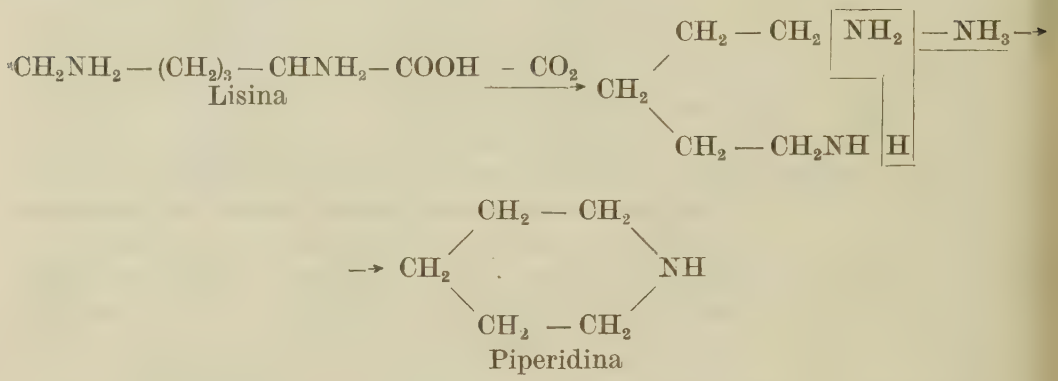
a) *Reazione al para-chinone.* — Obata e Zama (353) hanno trovato che la lisina per decomposizione batterica subisce un processo di decarbossilazione, di riduzione e di ciclizzazione che la trasforma in piperidina che

(1) Il lavoro delle dottoresse Testa e Simongini ha vinto il Premio Stazzi messo in palio dalla Fiera della Pesca di Ancona per le migliori comunicazioni presentate alle VII Giornate Veterinarie per i prodotti della Pesca.

Variazione del glicogeno epatico durante conservazione

N.	SPECIE ITTICA	GLICOGENO NEL FEGATO				*OSSERVAZIONI*
		Iniziale	dopo 24	48	72 ore	
1	Sgombro	1,41	0,61	—	0,15	
2	Triglie	1,95	—	0,55	tracce	
3	Sgombro	2,10	—	0,80	tracce	Nei muscoli: tracce di glicogeno fin dall'inizio.
4	Triglie	2,42	0,50	—	0,15	
5	Suro congelato per 30 giorni a –20° e del quale non si conoscono le condizioni all'atto del congelamento	assente	—	—	—	
6	Suro	1,74	—	0,75	assente	
7	Nasello	0,30	—	tracce	—	Determinazion eseguite su 1 gr. di materiale.
8	Nasello	1,30	—	tracce	—	Nel muscolo tracce fin dall'inizio.
9	Nasello	1,08	—	0,38	—	
10	Nasello (grande)	2,27 (Muscolo 0,30)	—	1,07 (Muscoli: tracce)	—	

reagisce con una soluzione satura di para-chinone per dare una colorazione rossa.



Circa 3 g. di pesce si omogeneizzano con 20 ml. di acqua distillata, la reazione si può effettuare direttamente sull'estratto di pesce omogeneizzato, sul filtrato della sospensione acquosa, sul muscolo intero ed anche sul muscolo bollito. Uno di noi (Testa) ha controllato questo metodo in collaborazione con Bortone (354) ed ha sempre eseguito la reazione sul filtrato limpido o sul centrifugato della sospensione acquosa.

Il filtrato proveniente dalla sospensione del muscolo di pesce fresco per aggiunta della soluzione acquosa satura di para-chinone assume una colorazione gialla che permane, sia pure leggermente intensificandosi, per 10 minuti. Quando il pesce non è più freschissimo la colorazione iniziale presenta subito una tendenza al rosso e dal giallo canarino del pesce fresco si passa al giallo arancio per il pesce ancora commestibile, ma non più freschissimo. Anche in questo caso la reazione si intensifica con il passare del tempo, per diventare, dopo 10 minuti, decisamente arancio.

Quanto più l'alterazione del pesce è progredita tanto più la colorazione rossa prende il sopravvento su quella gialla e per il pesce alterato si ottiene subito una colorazione rossa intensa appena aggiunto il reattivo nella quantità di 0,2 ml. per 8-10 ml. di filtrato.

La reazione è di esecuzione molto semplice e con una certa pratica si può arrivare a percepire l'alterazione che si verifica nel pesce dopo 24 ore di conservazione in ghiacciaia, quando cioè, pur non essendo freschissimo, è ancora perfettamente commestibile.

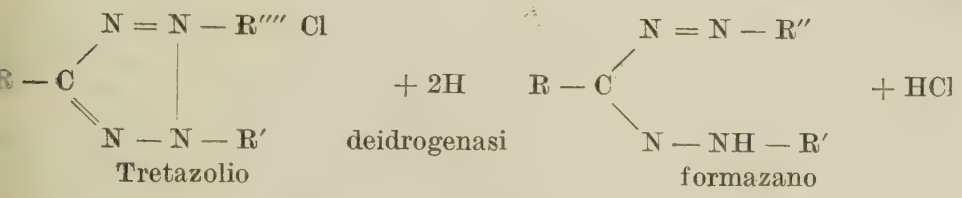
Il grande vantaggio di questa reazione consiste nel fatto che, a differenza delle altre, è atta a distinguere lo stadio di fresco da quello di stantio, fatto che deve costituire l'obiettivo principale di una reazione chimica che si proponga di stabilire lo stato di freschezza del pesce.

La reazione si presta in modo particolare all'accertamento dello stato di freschezza degli Elasmobranchi marini nei quali l'odore ammoniacale, che rapidamente si manifesta, può indurre in errore nel giudizio organolettico del grado di freschezza. Viceversa la reazione non risponde per i Molluschi

ed i Crostacei che anche freschissimi fanno subito una colorazione giallo-rossastra.

Questa reazione per la sua semplicità merita una più approfondita sperimentazione.

b) Reazioni con i sali di tetrazolio. — Shewan e Liston (171) partendo dal concetto che la velocità di putrefazione del pesce è in relazione molto stretta con la costituzione e l'entità della carica batterica, ritengono che anche il numero dei batteri vitali presenti sulla pelle del pesce aumenti rapidamente, dopo un periodo di stasi; con l'aumento del numero dei batteri aumentano anche le attività biochimiche e quindi anche quella della deidrogenasi. Perciò gli AA. hanno studiato l'impiego di indicatori di deidrogenasi nel giudizio di qualità del pesce e fra questi i più utili sono risultati i sali di tetrazolio che vengono ridotti a formazani colorati in rosso secondo la equazione:



Il sale di tetrazolio che meglio si presta allo scopo è il cloruro di 2-p-jodofenil-3-p-nitrofenol-5-feniltetrazolio (INT). Il procedimento è il seguente:

Si preparano cartine da saggio mediante la immersione di striscie di carta da filtro in una soluzione acquosa di INT e successivo asciugamento a 37°. Al momento dell'uso le cartine vengono poste sulla superficie del pesce, inumidite e compresse, ed ivi lasciate per 2 minuti; esse vengono quindi rimosse ed il colore si fa sviluppare per altri 13 minuti. Una contrassegnata aera della cartina viene quindi isolata ed il formazano viene eluito con alcol etilico contenente 0,3% di fenolo. La quantità di formazano viene quindi determinata colorimetricamente nella soluzione alcolica filtrata ed il risultato viene espresso come percentuale di luce trasmessa.

La quantità di colore presente nelle cartine è tanto maggiore quanto più il pesce è stantio ed inversamente è minore la percentuale di luce trasmessa. Questo metodo fornisce in effetti un giudizio grossolano della qualità del pesce in quindici minuti attraverso l'osservazione delle cartine ed un giudizio accurato, attraverso la determinazione colorimetrica del formazano eluito, in circa mezz'ora, tre quarti d'ora.

I risultati ottenuti con le cartine al tetrazolio sono riportati nella figura 8 dove sono confrontati con quelli ottenuti dalla determinazione della trimetilamina (TMA) delle Basi azotate volatili e con il logaritmo del numero dei batteri.

Kamasastri (355) usa il bromuro di tetrazolio e procede come segue: 1 ml di una sospensione acquosa del muscolo al 10%, vengono introdotti

in una provetta con 2,5 ml di un tampone di fosfati a pH 7,2 e 0,5 ml di bromuro di tetrazolio al 0,5 %; la provetta, agitata, viene termostatata a 37° agitando di tanto in tanto; si osserva il tempo necessario per l'apparizione del colore rosso che, dopo un periodo di tempo definito si può estrarre con alcol butilico e valutare colorimetricamente. L'apparizione iniziale del colore rosso è proporzionale alla entità dell'alterazione del pesce: appare in tre ore quando il pesce ha superato lo stadio di freschezza organolettica ed in 30 minuti nel caso di pesce guasto. Sugheri conservati in ghiaccio con una carica batterica di 100 batteri/grammo facevano apparire la colorazione rossa dopo 13 ore.

Gli indiani Suryanarayama e coll. (356) hanno pure sperimentato il bromuro di tetrazolio e determinato il formazano formatosi dopo un determinato periodo di tempo di incubazione estraendolo con toluene: secondo gli AA. questa determinazione costituisce un indice certo per stabilire il grado di alterazione del pesce.

Moorjani e coll. (357) usano invece il cloruro di feniltetrazolio e misurano il tempo necessario per l'apparizione di un netto colore rosa. Hanno anche essi ottenuto buoni risultati, ma trovano una controindicazione nella presenza di quantità apprezzabili di trimetilamina.

Il metodo ai sali di tetrazolio è stato sperimentato nel Laboratorio Chimico Provinciale di Pescara dalla dottoressa Cavallone che ne ha riferito alle V Giornate Veterinarie sui prodotti della pesca (358). È stato usato il cloruro di p-iodo-fenil-3-p-nitro-fenil-5-fenil-tetrazolio ed i risultati sono stati soddisfacenti.

c) Altre reazioni cromatiche. — La dottoressa Cavallone (359) ha successivamente applicato alla fauna adriatica la reazione di riduzione del bleu di metilene proposta da Novak, Fieger e Baley (360) per determinare la carica batterica dei gamberi e delle ostriche. La reazione è risultata praticamente inutilizzabile perchè la decolorazione avveniva in un tempo eccessivamente lungo.

Migliori risultati ottenne invece la dottoressa Cavallone (359) con la reazione basata sulla riduzione della resazurina, reazione proposta da Uno e Tokunaya (361); il colore iniziale violetto della soluzione acquosa è ridotto gradualmente dalla carne di pesce al rosa (resolfina) ed all'incolore (idroresolfina) più o meno rapidamente a seconda della carica batterica e quindi del periodo di conservazione.

VIII – Esame chimico e chimico-fisico dei liquidi dell'occhio.

Recentemente Proctor, Nickerson e coll. (362) hanno proposto l'esame chimico e chimico-fisico del liquido della camera posteriore dell'occhio come metodo per la determinazione rapida della qualità dell'haddock. Questi AA. sono partiti dal presupposto che i metodi per stabilire la qualità del pesce debbono essere praticati su una porzione del corpo che non sia influenzata

da molte cause di variabilità e soprattutto che non venga modificata durante la conservazione in ghiaccio o il lavaggio con acqua. In base a queste considerazioni si sono orientati verso indagini chimiche o chimico fisiche sul liquido della camera posteriore dell'occhio.

Hanno trovato che l'indice di rifrazione, determinazione di grande precisione e per la quale bastano 2-3 gocce di liquido, aumenta durante la conservazione e passa da 1,3350 — 1,3360 per il pesce fresco a 1,3370-1,3380 per il pesce stantio ed a valori superiori (fino a 1,3400) per il pesce non commestibile. Questi risultati, dovuti alla presenza di amminoacidi, presentano un ottima correlazione (0.93) con i caratteri organolettici e con la determinazione della trimetilamina.

L'esame batteriologico del liquido della camera posteriore dell'occhio ha dimostrato che il fluido rimane sterile fino ad incipiente alterazione, successivamente si inquina ed i germi salgono a parecchi milioni per grammo. Altre determinazioni, come quella della densità ottica a 420 millimicron, si sono dimostrate promettenti, ma non adatte per una pratica applicazione, come invece sembra possibile per la misura dell'indice di rifrazione.

Al Convegno per la Tecnologia della pesca svoltosi a Rotterdam dal 25 al 29 giugno 1956, era già stato presentato un rapporto del Dipartimento di Tecnologia degli Alimenti dell'Istituto di Tecnologia di Boston che prendeva in considerazione l'esame del liquido della camera posteriore dell'occhio ai fini dell'accertamento della qualità del pesce e perveniva alla conclusione che queste misure (indice di rifrazione, densità ottica, reazione del biureto, reazione con piridina) sono pronte, semplici e presentano una stretta relazione con la qualità del pesce esaminato.

Noi però dobbiamo osservare che questi metodi sono difficilmente applicabili ai pesci di piccola taglia che costituiscono prevalentemente la nostra fauna ittica.

Per completare quest'argomento ricordiamo i lavori di Love (363) sulla modificazione post-mortem del cristallino dei pesci, argomento che sarà trattato in questa sede da un allievo del Centro Studi sull'Igiene dei Prodotti della Pesca.

X – Determinazione del pH e del potere tampone.

a) Determinazione del pH. — Non si può nascondere che la determinazione del pH è molto semplice e rapida, sia con gli attuali apparecchi potenziometrici di facile impiego, sia con i metodi colorimetriei, ed è quindi logico orientamento verso questo metodo di indagine per determinazioni in serie a scopo merceologico.

Se, come già abbiamo detto, la letteratura sul pH dei pesci è molto vasta di non facile consultazione, pochi però, anzi pochissimi, sono i dati relativi alla nostra fauna ittica, perchè quasi tutti i lavori sono stati eseguiti sui pesci dell'Atlantico Settentrionale, del Pacifico e dei Mari del Nord.

Le prime misure del pH dei pesci sono quelle di Benson (364) che tendono ad accertare una relazione tra il pH e lo stabilirsi della rigidità cadaverica. La determinazione del pH in queste ricerche è fatta elettrometricamente con elettrodo al chinidrone, su sezioni del muscolo di pesce. Il Benson trova una differenza del pH a seconda del metodo con cui il pesce viene pescato: se la pesca avviene con rete a strascico il muscolo si presenta più affaticato, più ricco di acido lattico e quindi con pH più basso rispetto al pesce pescato con rete fissa. Nell'haddock la reazione leggermente acida nel primo caso (pH 6,3-6,8) è leggermente alcalina nel secondo (pH 7,0-7,3). Durante la conservazione, le misure di Benson si riferiscono però a poche ore di conservazione, il pH diviene leggermente più acido specialmente nel pesce pescato con rete fissa. Nel merluzzo (*Merluccius merluccius*) il pH era leggermente alcalino (7,06) e tale si manteneva dopo la morte. Nel *Gadus aeglefinus* il pH trovato era vicino al punto neutro e variava solo leggermente, nella razza il pH da alcalino (7,12) diventava leggermente acido durante le prime ore di conservazione. Nell'anguilla (*Anguilla anguilla*) il Benson trova valori acidi del pH (6,5). Quest'A. conclude che il pH non è la causa determinante la rigidità cadaverica.

Successivamente e quasi contemporaneamente, facevano misure del pH nei pesci Poloektoff (215) e Yamamura (216). Il primo stabilì i valori del pH compresi tra 6,6 e 6,8 come caratteristici del pesce fresco, quelli tra 6,9 e 7,2 del pesce guasto. Per Yamamura, invece, l'odore di putrido appare già a pH 6,5. Sono evidenti le differenze che si riscontrano nei valori del pH a seconda della fauna ittica studiata. Pure Hjorth-Hansen (217) accerta delle differenze nelle variazioni del pH per pesci di specie diversa e mentre osserva nei teleostei una diminuzione del pH dopo la morte da 7,0 a 6,4, negli squali questo valore può scendere a 5,4.

Van Deurs e Hoff-Jorgensen (211) invece hanno determinato il pH dei filetti di merluzzo ed hanno osservato un aumento del pH durante la conservazione del pesce. Essi, fanno anche un'altra osservazione importante cioè che le alterazioni sono più rapide nel pesce tagliato che in quello intero.

Gli Americani Charnley e Goard (365) richiamano l'attenzione sulla necessità di stabilire il pH dei pesci attraverso lo studio statistico di numerosi esemplari. Viene poi l'importante serie di lavori di Dyer e coll. (120, 121, 122, 123, 208): le loro conclusioni sono di notevole interesse circa il propagarsi dell'alterazione dalla superficie verso l'interno del muscolo, e sul migliore accordo del pH superficiale, anzichè di quello del campione medio, con i saggi chimici e batteriologici, ma non possono avere riferimenti con i nostri metodi di indagine e con i nostri risultati in quanto si riferiscono a fette di muscolo tagliate dai grossi pesci atlantici, mentre per i nostri mercati l'alterazione del pesce in trance è d'interesse limitato. Ad ogni modo questi AA. stabiliscono il pH di alcune varietà di merluzzo (cod ed haddock) tra 6,2 e 6,8 e prendono il valore di pH 7,5 come quello di un pesce alterato; i valori intermedi (pH 6,8-7,5) starebbero ad indicare una incipiente alterazione.

Le stesse osservazioni si traggono dal lavoro di Elliot (212). Si tratta di un lavoro fatto con la ricchezza di dati possibili solo in America: sono circa

10.000 determinazioni di pH effettuate però su poche specie atlantiche e su trance di muscolo.

I valori riportati per le specie esaminate, e relativamente al pesce fresco sono i seguenti:

Gadidi:	*Merluccius bilinearis*	7,0-7,3
	Melanogrammus aeglefinus	6,5-6,7
	Pollachius virens	6,5-7,0
	Gadus callarias	6,7-6,9
Pleuronettiformi:	*Hippoglossus platessoides*	6,5-7,0
	Gliptocephalus cinoglossus	6.7-6,9
Scorpenidi:	*Sebastes marinus*	6,7-6,9

Lo stesso Elliot precisa che diversi sono i valori che si ottengono a seconda che le misure sono fatte sul muscolo dopo il processo di affettamento o sul pesce intero. Afferma, a differenza di Dyer, che i valori ricavati da un campione medio del pesce intero siano più rispondenti alla realtà, ed appunto perciò ritiene che la determinazione del pH sulle fette di pesce non abbia valore pratico, mentre attribuisce un elevato valore teorico alla sua determinazione. In tutte le specie esaminate da questo A. il pH aumenta con la durata del processo di conservazione. Elliot scarta l'impiego di cartine indicatrici per la determinazione del pH e ritiene opportuno stabilire il pH per ogni specie di pesce. Elliot studia anche le variazioni di pH durante la conservazione del pesce e nei suoi diagrammi confronta i valori del pH sia con i risultati dello esame organolettico che con il tempo di conservazione; egli giunge alla conclusione che, data l'estrema soggettività dell'esame organolettico lo scarto con i valori del pH è molto vasto nei diversi stadi di conservazione, viceversa lo scarto è minore se si considerano i valori del pH in relazione al tempo di conservazione, pertanto il tempo di conservazione deve considerarsi come un dato di riferimento più sicuro che non l'esame organolettico. I dati del pH relativi alla fauna ittica dei nostri mari continentali ed in particolare di quella dell'Adriatico di cui noi ci occupiamo sono veramente molto scarsi. Dal Monte (366) riferisce alcuni valori del pH determinato nella boba (pH 6,0), nello sgombro (pH 6,35-6,50) e nella razza (pH 6,30). Recentemente al VII Congresso della Società Italiana di Scienze Veterinarie Braccio (367) e Giannelli (368) hanno riferito sui valori del pH del *Merluccius merluccius*, *Mugil cephalus*, *Scomber scombrus e Trachurus trachurus*, ed hanno trovato per il pesce fresco, allo stato di rigidità cadaverica, i seguenti valori:

	Minimo	Massimo	Media
Merluccius merluccius	6,70	6,92	6,80
Scomber scombrus	5,80	6,31	5,95
Mugil cephalus	5,77	6,05	5,83
Trachurus trachurus	5,80	6,18	5,93

Questi stessi AA. hanno studiato anche la variazione del pH durante la conservazione dei pesci suddetti e mentre hanno trovato una forte variazione del pH nel senso alcalino per il pesce in avanzata putrefazione, trovano invece per il pesce in incipiente alterazione valori che poco si discostano da quelli del pesce fresco: per il merluzzo il valore medio del pH allo stato di incipiente alterazione è dai predetti AA. stabilito in 6,98, quindi molto vicino ai valori massimi riscontrati per lo stesso pesce allo stato fresco; nel Mugil cephalus in incipiente alterazione trovano un valore medio di 5,94 contro valori, massimi di 6,05 nel pesce fresco; per lo *Scomber scombrus* 6,3 (valori massimo del pesce fresco 6,18).

Misericordia (218) ha riferito all'VIII Congresso della Società Italiana Scienze Veterinarie (1954) circa alcune ricerche fatte nel nostro Laboratorio sul pH della fauna ittica del Medio Adriatico ed è pervenuto alle seguenti conclusioni:

1) esiste una differenza del valore dei pH fra i gadidi ed i pesci azzurri, che si mantiene durante la conservazione (fig. 12);

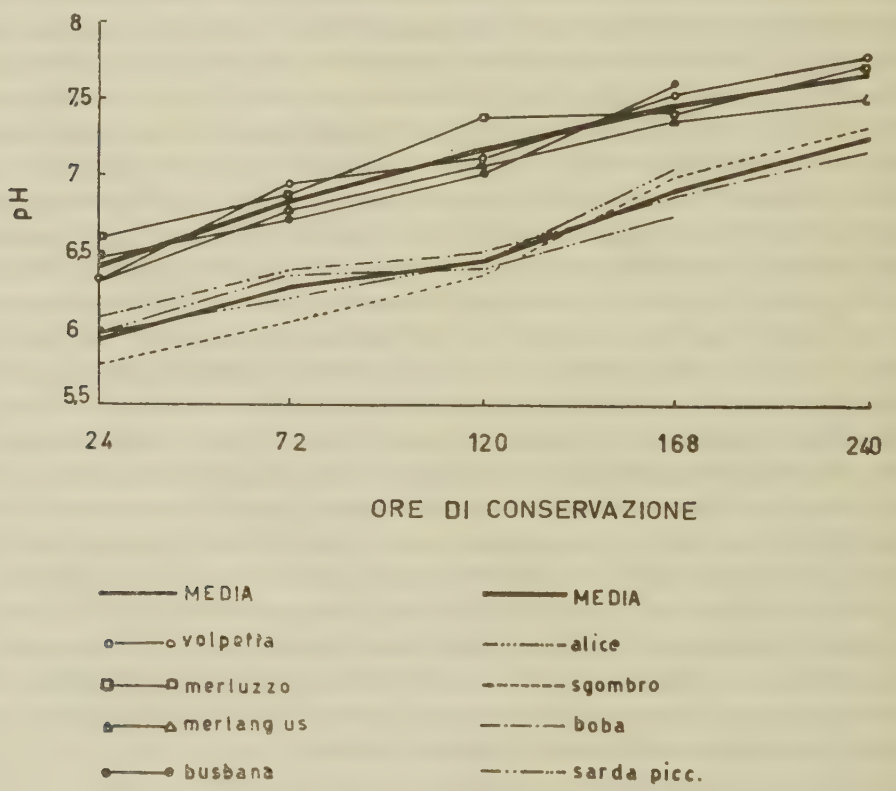


Fig. 12. — Variazioni del pH ne ;pesce bianco (linee intere) e pesce azzurro (linee tratteggiate) con il tempo di conservazione.

2) con la conservazione il pH si porta verso valori più alcalini ed infatti per tutte le specie da noi prese in considerazione il pH dopo 168 ore di conservazione è gradatamente aumentato di una unità circa;

3) la determinazione del pH per stabilire lo stato di conservazione del pesce può essere applicata all'uso corrente solo dopo aver eseguito numerose determinazioni per una stessa specie e conoscendo il pH caratteristico delle singole specie.

Caracciolo e Perna (369) hanno determinato il pH delle masse muscolari del *Nephrops norvegicus* e concludono che questa determinazione può trovare applicazione solo per il riconoscimento degli esemplari freschi, ma non arriva a differenziare quelli stantii da quelli alterati. Perna (370) ha determinato il pH dell'*Astacus pallipes* (Gambero di fiume) e trova allo stato fresco un valore medio di 6,70 (minimo 6,40, massimo 6,90); con la conservazione il pH aumenta e diviene decisamente alcalino 48 ore dopo la morte. Perna ritiene che per il Gambero di fiume la determinazione del pH è un mezzo sicuro per accertare la commestibilità del prodotto.

Altri risultati sulle determinazioni del pH della nostra fauna ittica anche come metodo di accertamento della qualità del pesce saranno riferite in questa sede dalla Dottoressa Cavallone (219).

b) *Potere tampone.* — Come abbiamo già detto la determinazione de potere tampone è stata resa applicabile all'esame dei prodotti della pesca da Stansby e Lemon (223). Questi AA. preparano l'estratto acquoso di 5 g di muscolo in 200 ml di acqua e titolano 100 ml di estratto con HCl N/60 agitando continuamente e determinando gli ml di HCl N/60 necessari per portare il pH dell'estratto in un primo tempo dal pH iniziale a pH 6,00 e quindi da pH 6,00 a pH 4,28. Il numero di ml impiegati nella prima titolazione viene indicato da Stansby e Lemon come « valore *B* » quello degli ml impiegati nella seconda titolazione « valore *A* ». Come misura del potere tampone viene assunto direttamente il valore degli ml di HCl adoperati, il che semplifica l'espressione dei risultati, senza modificarne, nel caso del valore *A*, il significato, perchè l'intervallo di pH rimane costante (6,00-4,28).

Secondo Stansby e Lemon nei pesci di buona qualità avremo alti valori di *A* (presenza di ossido di trimetilamina) e bassi valori di *B* (assenza di basi volatili) mentre nei pesci di cattiva qualità i valori si invertono.

Cutting (209) (224) conferma questi risultati e riscontra un più rapido abbassamento del valore *A* nei pesci che erano stati sottoposti a congelamento.

Hacker (226) determina il potere tampone con lo stesso procedimento di Stansby e Lemon e confronta i valori ottenuti con una scala di freschezza proposta da Zeiser e Schwatz (371) nella quale la classifica 2,5 rappresenta il limite di commestibilità. Come si osserva nelle figure 13 e 14 il valore *A* si mantiene pressochè costante fino a quando la classificazione organolettica non arriva a 2,5 quindi sale rapidamente. Il valore *B* invece sale fin dall'inizio con una maggiore accentuazione dopo che il pesce ha raggiunto il limite di commestibilità.

Questi risultati per i valori di *B* si accordano con quelli di Stansby e Lemon, se ne discostano per i valori di *A* per i quali Hacker riscontra pure un valore crescente con la durata del periodo di conservazione, mentre Stansby e Lemon

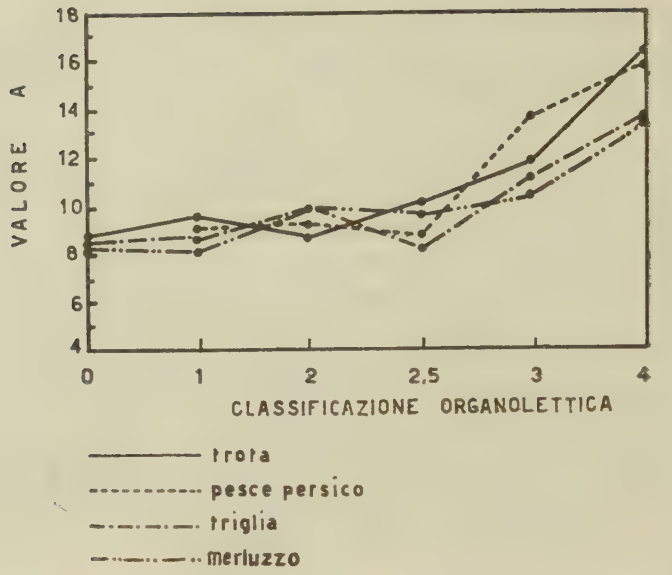


Fig. 13. — Variazioni del potere tampone (valore di *A* di Stanby e Lemon) con i caratteri organolettici.

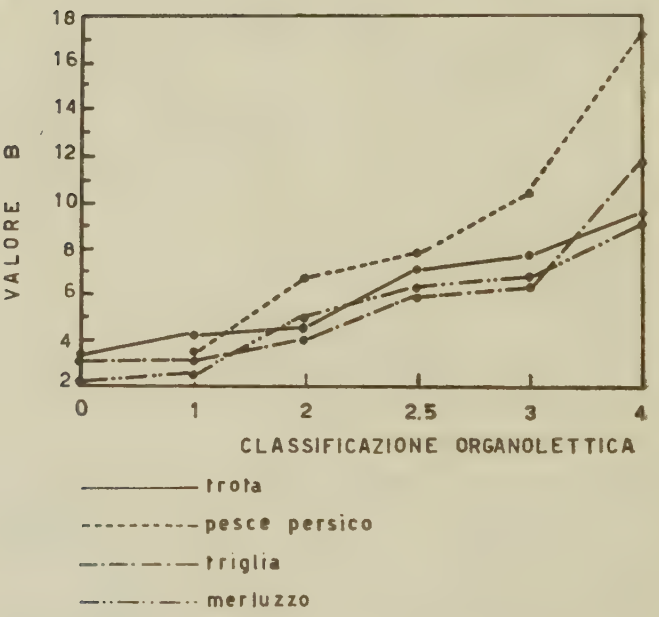


Fig. 14. — Variazioni del potere tampone (valore di *B* di Stansby e Lemon) con i caratteri organolettici.

ritengono che detto valore debba diminuire con la progressiva scomparsa dell'ossido di trimetilamina.

Hacker da uno studio comparativo dei valori di *A* e *B* ottenuti per alcune specie ittiche arriva a stabilire per il potere tampone in relazione ai caratteri

TABELLA N. 16

Classificazione organolettica dei pesci in base al potere tampone del muscolo

SPECIE	CLASSIFICA ORGANOLETTICA	VALORE *B*	VALORE *A*
Trota	0	inferiore 4,6	inferiore 11
	1	4,6	11
	2	tra 4,6 e 6,6	11
	2,5	superiore 6,6	11
	3	6,6	11
Triglia	0	inferiore 4,0	10,5
	1	4,0	10,5
	2	tra 4 e 6,0	10,5
	2,5	superiore 6,0	10,5
	3	6,0	superiore 10,5
Pesce persico	0	inferiore 4,0	inferiore 10,5
	1	9,0	10,5
	2	tra 4,0 e 6,0	10,5
	2,5	superiore 6,0	10,5
	3	6,0	superiore 10,5
Merluzzo	1	inferiore 5,0	inferiore 11
	2	tra 5 e 7,0	11
	2,5	superiore 7,0	11
	3	7,0	superiore 11

rganolettici i valori riportati nella tabella 16 (Con l'aumentare del punteggio i classifica la qualità del pesce peggiora e sopra a 2,5 deve ritenersi incommestibile). Hacker in disaccordo con gli AA. americani da maggior importanza l valore *B*.

Cutting (207) ha viceversa confermato per diverse specie ittiche una diminuzione del potere tampone tra pH 6,00 e pH 4,28 (valore *A*) durante la onservazione in ghiaccio, ma le variazioni da specie e specie e da un esemplare ll'altro erano molto considerevoli. Cutting ritiene che nessuna combinazione i *A* con i valori di *B* può dare alla determinazione del potere tampone un alore attendibile per stabilire la freschezza del pesce.

Invece recentemente alcuni AA. indiani confermano che il valore di *A* uò essere usato come misura oggettiva per determinare il grado di alteraione del pesce (372).

Considerazioni conclusive

Alla fine di questa nostra esposizione che, per quanto lunga, non ha la pretesa di essere completa, desideriamo far seguire alcune considerazioni intese soprattutto a precisare come, a nostro parere, dovrebbe essere indirizzato il successivo lavoro per arrivare ad una conclusione che metta a disposizione del Veterinario Ispettore un metodo obbiettivo per giudicare il grado di freschezza del pesce.

Non si può dire che ci sia una carenza di metodi proposti, anzi l'imbarazzo sta piuttosto nella scelta, anche limitandola ai metodi da noi descritti che sono o i più importanti o a quelli che per la loro semplicità ci sono sembrati di possibile applicazione.

Nella scelta delle reazioni chimiche atte a valutare il grado di freschezza del pesce occorre innanzi tutto tenere presenti quali sono le modificazioni che si verificano durante la conservazione. Queste modificazioni, che noi abbiamo succintamente esaminato nella prima parte di questa relazione, consistono nella formazione di nuovi composti che non esistono, o esistono in misura minore, nel pesce fresco; principalmente: sostanze azotate solubili o volatili generate dalla degradazione della molecola proteica, trimetilamina originata per riduzione dell'ossido ed i prodotti di ossidazione dei grassi, questi ultimi limitatamente ai pesci che li contengono in discreta quantità.

I metodi chimici atti ad esprimere un giudizio sulla freschezza del pesce possono essere indirizzati alla ricerca di un gruppo di questi composti o a quella di un singolo composto. La determinazione delle basi volatili, degli acidi volatili, delle sostanze volatili riduttrici, sono le principali fra quelle che si basano sulla ricerca di un gruppo di composti; quelle della trimetilamina, della dimetilamina, dell'ammoniaca, della lisina e dei perossidi ricercano invece un singolo composto.

Queste determinazioni hanno tutte i loro lati positivi e negativi, strenui difensori e critici spietati. Certo è molto difficile esprimere un giudizio di qualità su una qualsiasi partita di pesce in base ad una sola determinazione chimica, ma indubbiamente alcune di quelle citate sono suscettibili di vaste applicazioni.

Inoltre non si deve dimenticare che nelle diverse specie ittiche l'alterazione ha un andamento diverso, che la fauna ittica dei diversi paesi differisce notevolmente ed anche la flora batterica, causa fondamentale di qualsiasi alterazione che si verifichi post-mortem nella carne dei pesci, ha il suo habitat e varia da paese a paese qualitativamente e quantitativamente. Superfluo accennare all'influenza che esercitano sul decorso dell'alterazione le diverse modalità di conservazione del pescato.

Fino ad oggi le ricerche sui metodi chimici per riconoscere le alterazioni dei pesci sono state eseguite specialmente negli Stati Uniti, nel Canadà, nel Giappone, in Inghilterra ed, in misura minore, nei paesi scandinavi ed in Russia. Scarsissime le ricerche nei paesi del bacino del Mediterraneo. Come è logico i pesci esaminati dai ricercatori americani, giapponesi e del Nord Europa,

si differenziano notevolmente da quelli che vivono nei nostri mari, sia per la taglia (i merluzzetti del Nord America sono lunghi 50 cm, ed un merluzzo normale è lungo un metro circa), sia per l'ambiente nel quale vivono (ad esempio nei mari scarsamente salini del Nord); pertanto i risultati di questi ricercatori non si possono trasferire, come valori assoluti, ai prodotti della pesca mediterranea, ma debbono servire come indirizzo alle ricerche che è necessario intraprendere su questi pesci, per arrivare alla concretizzazione di un metodo obbiettivo per un giudizio di qualità e per stabilire il grado di freschezza del pesce.

Riteniamo difficile che si arrivi a stabilire un metodo applicabile a tutte le specie ittiche, ed inoltre per uno stesso metodo i valori limite da assumere per il giudizio di commestibilità, variano pure da specie a specie. Concordiamo infine con il parere di Hillig e di Stansby che per poter esprimere il giudizio obbiettivo sullo stato di freschezza di un pesce sono necessarie almeno due determinazioni; più precisamente, aggiungiamo noi, una di gruppo ed una per un singolo componente: la determinazione di gruppo dovrebbe essere quella delle basi volatili per i pesci magri o quella degli acidi volatili per i pesci grassi. Il componente singolo da determinare potrebbe essere la trimetilamina o l'indice di perossido dei grassi.

Esiste poi tutta una serie di reazioni (reazioni cromatiche e di precipitazione) che hanno un valore indicativo ma che presentano il vantaggio di potersi eseguire in serie, in modo da circoscrivere i casi dubbi, sui quali approfondire le ricerche.

A questo scopo si presta bene la determinazione del pH, che è la risultante di tutto il complesso di modificazioni che possono verificarsi nel muscolo dei pesci, ma che ha l'inconveniente di variare da specie a specie e, nella stessa specie, con la taglia del pesce.

A nostro parere le ricerche per stabilire un indice obbiettivo atto ad accertare lo stato di freschezza del pesce debbono essere condotte come segue:

1) esaminare il comportamento del pesce fresco nei riguardi dell'indice allo studio (influenza della stagione, della taglia, della specie, ecc.);

2) seguire le variazioni dell'indice in relazione al binomio temperatura-tempo, in parallelo con la carica batterica, preferibile, a nostro modo di vedere, alla correlazione con gli indici organolettici estremamente variabili;

3) accertare con quale altro indice, a carattere più generale o più particolare, si accorda quello in esame.

Shewan e Liston per i pesci dei Mari del Nord consigliano le seguenti determinazioni:

1) basi volatili o trimetilamina;

2) percentuale di ribosio non precipitabile;

3) determinazione del contenuto in lisina.

Concordiamo per quanto riguarda la determinazione delle basi volatili e specialmente della trimetilamina, ma le altre due determinazioni sono molto laboriose ed il loro interesse deve ritenersi limitato alla ricerca scientifica. Infatti non si deve mai dimenticare che queste determinazioni per

entrare nella pratica corrente debbono essere di semplice e facile esecuzione.

Riteniamo invece che un dato di notevole interesse possa essere quello fornito dalla determinazione dell'indice di perossido, anche perchè il metodo, come abbiamo visto, può essere usato per il riconoscimento del pesce congelato.

Un'altra ricerca che merita di essere approfondita per la sua applicazione alla nostra fauna ittica è quella della determinazione delle sostanze volatili riduttrici, largamente diffusa nel Nord America, lungo le Coste del Pacifico. Questo indice si basa su un principio che, teoricamente, a nostro avviso, è molto giusto; attendiamo di ricevere dall'America l'apposito recipiente di reazione ideato da Faber per poter iniziare le ricerche nelle stesse condizioni sperimentali.

Esistono infine alcune considerazioni di indole generale che debbono servire di guida nella scelta del metodo obbiettivo da consigliare per stabilire il grado di freschezza del pesce. La scelta del metodo è subordinata ad alcuni fattori che già abbiamo esposto, ma che è opportuno ricordare:

1) sua correlazione con i caratteri organolettici e con il binomio temperatura tempo;

2) possibilità di stabilire valori limiti che concordino con il giudizio organolettico.

Il « valore limite » è la quantità di prodotto di alterazione presente al momento in cui il pesce viene dichiarato organoletticamente inaccettabile ed è indicato dal punto di intersezione della curva che rappresenta l'evolversi di quel prodotto di alterazione con l'ascissa corrispondente al tempo di conservazione (vedi fig. 4). Luijpen ha calcolato l'errore che si verifica quando il valore limite per una data sostanza viene preso come criterio per giudicare l'accettabilità del pesce, questo errore è stabilito dalla differenza in più o in meno fra il tempo di conservazione, accertato organoletticamente, e quello valutato obiettivamente.

È pertanto necessario raggiungere un accordo sull'errore accettabile come presupposto indispensabile per determinare l'attendibilità del metodo proposto. Usando un metodo obbiettivo l'errore accettabile non dovrebbe essere maggiore dell'errore trovato con la determinazione organolettica, pertanto il massimo errore accettabile del metodo obbiettivo è determinato dalla imprecisione del giudizio organolettico, quindi sarà minore per le temperature più alte che per quelle più basse. Infatti la diversa velocità di deteriorazione alle varie temperature si riflette nella diversa inclinazione delle curve: (vedi ad esempio figura 7 per l'indice di perossido) una curva poco rapida nella zona dei valori limite dimostra che l'imprecisione dell'analisi corrisponde ad un più lungo periodo di conservazione. Cioè: stabilito l'intervallo di tempo accettabile per la dichiarazione di incommestibilità attraverso un esame obbiettivo, la quantità di sostanza che si sviluppa in quell'intervallo di tempo (pendenza della curva) è in relazione alla precisione del metodo di determinazione e ci dirà se questo metodo è applicabile in quelle date condizioni sperimen-

tali. Se noi prendiamo in esame la figura 11 si osserva facilmente che nel primo tratto la curva relativa alla dimetilamina presenta una maggiore pendenza rispetto a quella della trimetilamina e quindi esattamente lo Shewan ritiene che la determinazione della dimetilamina è preferibile a quella della trimetilamina per riconoscere una alterazione incipiente.

Noi abbiamo iniziato queste ricerche sui pesci dell'Adriatico: abbiamo ottenuto risultati confortanti e non disperiamo di arrivare ad una conclusione.

Deve ascriversi a merito dell'Istituto Sperimentale per l'Igiene ed il Controllo Veterinario dei Prodotti della Pesca se il problema è stato proposto e studiato in Italia e se abbiamo avuto a disposizione la materia prima per eseguire queste indagini e la possibilità di addestrare dei giovani in questo settore di ricerche del tutto nuovo e non sempre facile.

La raccolta della letteratura e dei metodi di analisi è stata anche molto lunga e laboriosa e dobbiamo ringraziare la Direzione Generale dei Servizi Veterinari del Ministero della Sanità che ci ha procurato lavori ed estratti specialmente dei ricercatori giapponesi.

Da parte nostra con questa rassegna abbiamo voluto mettere il nostro lavoro a disposizione di quanti vogliono dedicarsi a queste ricerche. Se il problema verrà affrontato contemporaneamente e con unicità di indirizzo in diverse zone del bacino del Mediterraneo, noi riteniamo che sarà possibile arrivare a stabilire i metodi obbiettivi atti a riconoscere lo stato di conservazione del pescato.

Riassunto

Gli Autori, in una prima parte del lavoro, descrivono i fenomeni alterativi del pesce dal punto di vista organolettico, batteriologico e biochimico, prendendo anche in considerazione le alterazioni che si verificano nel pesce congelato. La seconda parte del lavoro è dedicata ad una esposizione critica dei metodi chimici e chimico-fisici proposti per valutare la freschezza del pesce; nell'esame dei risultati sono posti in rilievo quelli ottenuti da autori italiani sulla fauna ittica dei nostri mari.

Résumé

Dans la première partie de leur ouvrage, les auteurs décrivent les phénomènes altératifs du poisson du point de vue organologique, bactériologique et biochimique, en prenant en considération les altérations qui se vérifient dans le poisson congélé. La deuxième partie de l'ouvrage est consacrée à l'exposé critique des méthodes chimiques et physico-chimiques proposées pour l'évaluation de la fraîcheur du poisson. Dans l'examen des résultats on a mis en évidence ceux que les auteurs italiens ont obtenus sur la faune de nos mers.

SUMMARY

The Authors, in the first part of their work, describe the spoilage phenomena of fish, from a bacteriological, biochemical and organoleptic point of view, also taking into consideration the alterations taking place in frozen fish. The second part of the work contains a critical exposition of chemical and physical-chemical methods suggested for testing fish freshness. In the examination of results those obtained by italian Authors on our seas' fauna are put in evidence.

BIBLIOGRAFIA

(1) MAROTTA D.: « Rendiconti Ist. Sup. Sanità », 1, 369, 1938.

(2) CARTENÌ A. e ALOI G.: « Quaderni della Nutrizione », 1, 69, 1934 e 2, 419, 1935.

(3) BEHRE A.: « Z. Lebensm. Untersuch. u - forschung », 32, 299, 1949.

(4) LEE R. K. C. e PANG H. Q.: « Am. J. Trop. Med. », 25, 281, 1945.

(5) SCOTT D. M.: « Fish. Res. Bd. Can. Prog. Rep. Atl. St. », 48, 10, 1950.

(6) MACMURTRIE G. E. e CARTER N. M.: « Fish. Res. Bd. Can. Prog. Rep. Pac. St. », 77, 95, 1948.

(7) FOURNIER P.: « Bull. Soc. Sc. Hyg. Alim. », 38, 40, 1950.

(8) CASTELL C. H.: « Fish. Res. Bd. Can. Prog. Rep. Atl. St. », 44, 3, 1949.

(9) NOWITZKI E. (von): « Zentr. Bakt. Parasitenk. Abt. I orig. », 148, 364, 1942, *cit.* da SOUDAN (124).

(10) LINTZEL W.: « Biochem. Zeit. », 273, 243, 1934.

(11) TARR H. L. A.: « J. Fish. Res. Bd. Can. », 5, 211, 1941.

(12) TERROINE T.: « Ann. Nutr. Alim. », 3, 49, 1949.

(13) MARKOV V. N.: « Wien med. Wochschr. », 93, 388, 1943, *cit.* da SOUDAN (124).

(14) GEIGER E.: « Food Research », 9, 293, 1944.

(15) GEIGER E., COURTNEY G. e VAN SCHANKENBERG G.: « Arch. Biochem. », 3, 311, 1944-1946.

(16) LEGROUX G. e LEVADITI J. C.: « C. R. Soc. Biol. », 141, 998, 1947.

(17) LEGROUX R., LEVADITI G., BOUDIN G. e BOVET D.: « La presse Med. », 39, 545, 1946.

(18) TARR H. L. A.: « J. Fish. Res. Bd. Can. », 4, 367, 1939.

(19) MANTOVANI G. e PANEBIANCO F.: « Atti IV Giornate Vet. sui prodotti della pesca », Ancona, 13, 1957.

(20) STANSBY M. E. e LEMON J. M.: « Ind. Eng. Chem. (Anal. Ed.) », 5, 208, 1933.

(21) BEATTY S. A. e COLLINS V. K.: « J. Fish. Res. Bd. Can. », 4, 412, 1939.

(22) COLLINS V. K.: « J. Fish. Res. Bd. Can. », 5, 197, 1941.

(23) TARR H. L. A.: « Bacteriol. Revs. », 18, 1, 1954.

(24) REAY G. A., CUTTING C. L. e SHEWAN J. M.: « J. Soc. Chem. Ind. », 62, 77, 1943.

(25) BOURY M. e SCHVINTE J.: « Rev. Trav. Sci. Techn. Peches Mar. », 8, 282, 1935.

(26) STANSBY M. E.: « Fish. & Wildlife Service. U. S. Dpt. Int. », 94, 1, 1944.

(27) REAY G. A. e SHEWAN J. M.: « Food Invest. Bd. », 12, 1949.

(28) SHEWAN J. M. e EHRENBERG A. S. C.: « J. Sci. Food Agric. », 4, 482, 1953.

(29) SOUDAN F., BAZIN J., CHAPEL G., DASPET e SEYNAVE E.: « Ann. Nutr. Alim. », 9, 1, 1957.

30) Artioli D. e Ciani G.: « Atti Soc. It. Sci. Vet. », 8, 477, 1954.
31) Tretiakov D. K.: « Zool. Zh. J. S. S. S. R. », 22, 263, 1953, *cit.* da Soudan (124).
32) Love R. M.: « J. Sci. Food and Agric. », 5, 566, 1954 e 7, 220, 1956.
33) Pepe G., Simoncini G. e Bellafante T.: « Atti VI Giornate Vet. prodotti della pesca », Ancona, 137, 1959.
34) Reay G. A. e Shewan J. M.: « Advances Food Research », 2, 343, 1949.
35) Obata Y., Yamanishi Y. e Ishida M.: « Bull. Japan Soc. Sci. Fish. », 15, 551, 1950.
36) Obata Y. e Yamanishi Y.: « Bull. Japan Soc. Sci. Fish. », 15, 554, 1950.
37) Yamanishi Y. e Matsuzaka T.: « Bull. Japan Soc. Sci. Fish. », 20, 859, 1955.
38) Amano K.: « Bull. Tokai Regional Fisheries Res. Lab. », 1, 1, (1950.
39) Youngh O. C.: « Fish. Res. Bd. Can. Prog. Rep. Pac. St. », 37, 12, 1938.
40) Dyer F. E. e Dyer W. J.: « Fish. Res. Bd. Can. Prog. Rep. Atl. St. », 41, 4, 1947.
41) Dyer F. E. e Dyer W. J.: « J. Fish. Res. Bd. Can », 7, 449, 1949.
42) Shewan J. M., Mcintosh R. G., Tucker C. G. ed Ehrenberg A. S. C.: « J. Sci. Food Agric. », 4, 283, 1953.
43) Stansby M. E.: « In the Chemistry and Techology of Food and Food Products. Interscience N. Y. », 955, 1951.
44) Tauti M., Hirose L. e Wada H.: « J. Imp. Fish. Inst. », Tokio, 26, 79, 1931.
45) Forbes J. C.: « Cont. Can. Biol. Fish. », 3, 469, 1927.
46) Artioli D.: « Atti IV Congresso Nazionale del Freddo », Padova, 318, 1955.
47) Shewan J. M.: « Chem. and Ind. », 61, 312, 1942.
48) Zobell C. E.: « J. Bact. », 40, 223, 1940.
49) Zobell C. E.: « J. Marine Research », 4, 42, 1941.
50) Lipman: « Journ. Bact. », 12, 313, 1926.
51) Gabbano L.: « Igiene Moderna », 19, 97, 1926.
52) Sanborn J. R.: « J. Bact. », 19, 375, 1930.
53) Sanborn J. R.: « J. Bact. », 23, 349, 1932.
54) Wood E. J. F.: « Austr. Coun. Sci. Ind. », 100, 1, 1939.
55) Bedford R. H.: « Cont. Can. Biol. Fish. », 7, 427, 1932.
56) Gibbons N. E.: « Cont. Can. Biol. Fish. », 8, 275, 1934.
57) Snow J. A. e Beard P. J.: « Food Research », 4, 563, 1939.
58) Reed G. B. e Spence C. M.: « Cont. Can. Biol. Fish. », 4, 259, 1929.
59) Stewart M. M.: « Food Invest. Bd. Rep. », 207, 1931.
60) Stewart M. M.: « J. Marine Biol. Ass. United Kingdom », 18, 35, 1932.
61) Dyer F. E.: « J. Fish. Res. Bd. Can. », 7, 128, 1947.
62) Shewan J. M.: « Atti VI Congresso Int. Microbiologia », Roma, vol. VII, sez. XXII, 361, 1953.
63) Giannelli F.: « Igiene Moderna », 49, 614, 1956.
64) Shewan J. M.: « J. Bact. », 35, 397, 1938.
65) Thjotta Th. e Somme O. M.: « Acta Path. Microbiol. Scand. Suppl. », 37, 514, 1938.
66) Aschehoug V. e Vesterhus R.: « Food Research », 12, 55, 1947.
67) Lumley A., Piquè J. J. e Reay G. A.: « Food Invest. Bd. Special Rept. », 37, 1939.
68) Kiser J. S. e Bechwith T. D.: « Food Research », 9, 250, 1944.
69) Wood E. J. F.: « Australian J. of Marine and Freschwater Res. », 4, 160, 1953.
70) Hunter A. C.: « J. Bact. », 5, 353; 543, 1920 e 7, 85, 1922.
71) Fellers C. R.: « Univ. Wash. Publ. Fisheries », 1, 157, 1926.

(72) Harrison F. C., Perry H. M. e Smith P. W. P.: «Nat. Research Council Can. Rept.», 19, 1926.

(73) Hanes C. S.: « Food Invest. Bd. Rept », 109, 1940-1946.

(74) Salmon J. e Le Gall G.: « Rev. Trav. Off. Pech. Mar. », 9, 57, 1936.

(75) Burova A. E. e Nasledisheva S. I.: « Ann. Metchnikoff Inst. », 1, 41, 1935, *cit.* da Reay e Shewan (34).

(76) Burova A. E. e Nachaevskaya M. R., Kats MF. e Denisova N. Y.: «Ann. Metchnikoff Inst. », 2, 349, 1935, *cit.* da Reay e Shewan (34).

(77) Dobrowshy G.: « Voprosi Pitaniya », 4, 56, 1935, *cit.* da Reay e Shewan (34).

(78) Griffiths F. P.: « Food Research », 2, 121, 1937.

(79) Timofeeva L. A.: « Gigiena i Sanit. », 6, 39, 1949, *cit.* da Soudan (124).

(80) Gee A. H.: « Cont. Can. Biol. Fish. », 3, 349, 1927.

(81) Gee A. H.: « Cont. Can. Biol. Fish. », 5, 433, 1930.

(82) Proctor B. E. e Nickerson J. T.: « J. Bact. », 30, 377, 1935.

(83) Mura D. e Tanda S.: « Atti Soc. It. Sci. Vet. », 9, 617, 1957.

(84) Stewart M. M.: vedi (60).

(85) Hess E.: « Cont. Can. Biol. Fish. », 7, 149, 1932.

(86) Muller M. « Arch. Hyg. », 47, 149, 1903.

(87) Kiser J. S.: « Food Research », 9, 257, 1944.

(88) Hess E.: « Cont. Can. Biol. Fish. », 8, 461 e 491, 1934.

(89) Kiser J. S.: vedi (68).

(90) Sanborn J. R.: « J. Bact. », 19, 357, 1930.

(91) Horowitz-Wlassowa L. M. e Grinberg L. D.: « Zentr. Bakt. Parasitenk. Abt. II », 89, 54, 1933.

(92) Bini G.: « Bollettino di pesca, di pescicoltura e di idrobiologia, 1934. Rendiconti Acc. Naz. Lincei, Classe Scienze Fisiche, ecc. » 19, serie 6ª, III, 1934.

(94) Watson D. W.: « J. Fish. Res. Bd. Can. », 4, 252, 1939.

(93) Stewart M. M.: « Food Invest. Bd. », 93, 1934.

(95) Zobell C. E. e Upham H. C.: « Bull. Scripps Inst. Oceanog. Univ. California », 5, 239, 1944.

(96) Wood E. J. F.: « Australian Marine and Freschwater Research », 4, 160, 1953.

(97) Tarr H. L. A.: « Simposium on Cured and frozen Fish technology ». Goteborg, 1953.

(98) Wood E. J. F.: « Council for Sci. and Ind. Res., Div. of Fish. Rept », 3, 1940.

(99) Schonberg F.: « Vorratspflege u. Lebensmittelforschung », 1, 133, 1938.

(100) Dyer F. E.: « Fish. Res. Bd. Can. », 7, 128, 1947.

(101) Hunter A. C.: « Am. J. Hyg. », 2, 368, 1922.

(102) Kiser J. S. e Beckwith T. D.: « Food Resarch », 9, 250, 1944.

(103) Tarr H. L. A.: « Nature », 142, 1078, 1938.

(104) Baird E. A. e Wood A. J.: « J. Fish. Res. Bd. Can. », 6, 243, 1944.

(105) Wood A. J. e Baird E. A.: « J. Fish. Res. Bd. Can. », 6, 194, 1943.

(106) Castell C. H.: « J. Fish. Res. Bd. Can. », 7, 162, 1948.

(107) Castell C. H.: « J. Fish. Res. Bd. Can. », 7, 421, 1949.

(108) Castell C. H. e Anderson G. W.: « J. Fish. Res. Bd. Can. », 7, 370, 1948.

(109) Castell C. H. e Greenough M. F.: « J. Fish. Res. Bd. Can. », 14, 617, 1957.

(110) Anderson D. W. e Fellers C. R.: « Food Techn. », 3, 271, 1949.

(111) Bedford R. H.: « Proc. Pacific Sci. Congress. Atti V Congresso », 3715, 1933.

(112) Fitzgerald G. A. e Conway W. S.: « Am. J. Pub. Health. », 27, 1094, 1937.

(113) Shewan J. M.: « J. Roy. San. Inst. », 69, 394, 1949.

(114) Ciani G., Montefredine A., Caracciolo S., Pepe G., Sebastio C. e Testa C.: « Atti Soc. It. Sci. Vet. », 11, 602, 1957.

(115) Montefredine A., Ciani G., Caracciolo S., Pepe G., Perna A., Sebastio C., Orlandi V., Testa C. e Morelli I: « Atti Soc. It. Sci. Vet. », 12, 456, 1958.

(116) Anderson A. G.: « 26º Ann. Rept. Fishery Bd. », Scozia, parte III, 13, 1907.

(117) Hildebrandt J.: « Berlin tierarztl. Wachschr. », 38, 307, 1922.

(118) Beatty S. A. e Gibbons N. E.: « J. Biol. Board Can. », 3, 77, 1937.

(119) Lucke Fr. e Frerks E.: « Vorratspflege u. Lebensmittelforschung », 3, 130, 1940.

(120) Dyer W. J., Sigurdson G. J. e Wood A. J.: « Food Research », 9, 183, 1944.

(121) Wood A. J., Sigurdson G. J. e Dyer W. J.: « J. Fish. Res. Bd. Can. », 6, 53, 1942.

(122) Dier W. J., Dyer F. E. e Snow M.: « J. Fish. Res. Bd. Can. », 6, 403, 1946.

(123) Dyer W. J., Dyer F. E. e Snow M.: « Fish. Res. Bd. Can. Prog. Rep. Atl. St. », 37, 3, 1947.

(124) Soudan F.: « Congres Int. d'étude sur le role du poissons dans l'Alimentation », Paris, 448, 1950.

(125) Macleod J. J. R. e Simpson W. W.: « Cont. Can. Biol. Fish. », 3, 437, 1927.

(126) Heifetz H.: « Progressive fish culturist «, 55, 33, 1941.

(127) Macpherson N. I.: « Ann. Rept. Food Invest. Bd. », Gran Bretagna, 134, 1930, e « Biochem. J. », 26, 80, 1932.

(128) Sharp J. G.: « Food Invest. Bd. Rep. », 190, 1933.

(129) Sharp J. G.: « Food Invest. Bd. Pept. », 96, 1934.

(130) Tarr H. L. A.: « Fish. Res. Bd. Can. », 7, 609, 1950.

(131) Reay G. A., Cutting C. L. e Shevan J. M.: « J. Soc. Chem. Ind. », 62, 77, 1943.

(132) Hjorth-Hansen S.: « Fiskeridirekt. Skrifter. », 1, 4, 1953.

(133) Sigurdson G. J. e Wood A. J.: « J. Fish. Res. Bd. Can. », 6, 45, 1942.

(134) Leim H. M., Macleod J. J. R. e Simpson W.W.: « Cont. Can. Biol. Fish », 3, 459, 1927.

(135) Watson D. W.: « J. Fish. Res. Bd. Can. », 4, 267, 1939.

(136) Collins W. K.: « J. Fish. Res. Bd. Can. », 5, 197, 1941.

(137) Tarr H. L. A.: « Food Technology », 8, 15, 1954.

(138) Tarr H. L. A.: « Biochem. J. », 59, 386, 1955.

(139) Shewan J. M. e Jones N. R.: « J. Sci. Food Agric. », 8, 491, 1957.

(140) Banks A.: « Ann. Rep. Food Invest. Bd. », 74, 1937.

(142) Clark E. P. e Hilling F.: « J. Ass. Off. Agr. Chemists », 21, 684, 1938.

(141) Tarr H. L. A.: « Nature », 147, 417, 1941.

(143) Hilling F.: « J. Ass. Off. Agr. Chem. », 22, 116, 1939.

(144) Hilling F.: « J. Ass. Off. Agr. Chem. », 22, 414, 1939.

(145) Hilling F.: « J. Ass. Off. Agr. Chem. », 27, 237, 1944.

(146) Hilling F.: « J. Ass. Off. Agr. Chem. », 28, 239, 1945.

(147) Hilling F. e Clark E. P.: « J. Ass. Off. Agr. Chem. », 21, 688, 1938.

(148) Hilling F. e Knudsen L. F.: « J. Ass. Off. Agr. Chem. », 25, 176, 1942.

(149) Suzuki T.: « Bull. Japan Soc. Sci. Fish. », 19, 102, 1953.

(150) Higashi H., Okada M. e Yamada J.: « Bull. Japan Soc. Sci. Fish. », 16, 377 e 477, 1951.

(151) Snow J. A. e Beard P. I.: « Food Research », 4, 563, 1939.

(152) Riddel W. A., Brocklesby H. N. e Pugsley L.: « Biol. Bd. Can. Prog. Rep. Pac. St. », 33, 13, 1937.

(153) Tanikawa E.: « Bull Soc. Hyg. Alim. », 26, 149, 1938.

(154) Kutscher F. ed Ackermann D.: « Ann. Rev. Biochem. », 2, 355, 1953.

(155) Cook A. S.: « Can. Chem. and Met. », 15, 22, 1931.

(156) Beatty S. A.: « J. Fish. Res. Bd. Can. », 4, 229, 1939.

(157) Reay G. A.: « Rep. Food Invest. Bd. », Gran Bretagna, 87, 1938.

(158) Norris E. R. e Benoit G. I.: « J. Biol. Chem. », 158, 433 e 443, 1945.

(159) Ronold O. A. e Jakobsen F.: « J. Soc. Chem. Ind. », 66, 170, 1947.

(160) Dyer W. J.: « J. Fish. Res. Bd. Can. », 6, 351, 1945.

(161) Notevarp O., Hjorth-Hansen S. e Bakken K.: « Tids. Kjemi Bergvesen Met. », 7, 59, 1944.

(162) Dyer W. J.: « J. Fish. Res. Bd. Can. », 8, 325, 1952.

(163) Hughes R. B.: « J. Sci. Food Agric. », 10, 431, 1959.

(162 *bis*) Venkataraman R., e Chari S. T.: « Indian Journal of Fisheries », 2, 37, 1955.

(164) Testa C. e Simoncini G.: « Atti XIV Congresso Soc. Sci. Vet. », 1960 (in stampa).

(165) Suwa A.: « Arch. Ges. Physiol. », 128, 421 e 129, 231, 1909.

(166) Tarr H. L. A.: « J. Fish. Res. Bd. Can. », 5, 121, 1940.

(167) Sigurdson G. I.: « Ind. Eng. Chem. Anal. Ed. », 19, 892, 1947.

(168) Naudet A.: « J. Fish. Res. Bd. Can. », 5, 121, 1940.

(169) Poller K. e Linnewath: « Ber. », 59, 1362, 1926.

(170) Beatty S. A.: « Fish. Res. Can. », 4, 63, 1938.

(171) Shewan J. M. e Liston J.: « Fish. Processing Technologists Meeting », Rotterdam, 1956.

(172) Dyer W. J. e Mounsey Y. A.: « J. Fish. Res. Bd. Can. », 6, 359, 1945.

(173) Nikkila O. E.: « Suomen Kemistillhti », 24, 54, 1950 in « R.A.P.M. », 3 (4), 19, 1952

(174) Wood A. J. e Keeping F. E.: « J. Bact. », 47, 309, 1944.

(175) Dyer F. E. e Wood A. J.: « J. Fish. Res. Bd. Can. », 7, 17, 1947.

(176) Dyer W. J.: « J. Fish. Res. Bd. Can. », 7, 10, 1950.

(177) Shelanski H. A.: « Soap Sanit. Chem. », 25, 125, 1949.

(178) Shewan J. M.: « Rep. Food Invest. Bd. », Gran Bretagna, 75, 1937.

(179) Shewan J. M.: « J. Bact. », 35, 397, 1938.

(180) Reay G. A. e Shewan J. M.: « Rep. Food Invest. Bd. », Gran Bretagna, 9, 1938.

(181) Shewan J. M.: « Nature », 143, 284, 1939.

(182) Beatty S. A. e Gibbons N. E.: « J. Biol. Bd. Can. », 3, 77, 1936.

(183) Beatty S. A. e Collins V. K.: « J. Fish. Res. Bd. Can. », 5, 32, 1940.

(184) Brocklesby N. H. e Riddel W. A.: « Biol. Bd. Can. Prog. Rep. Pac. St. », 33, 17, 1937.

(185) Bradley H. C. e Bayley B. E.: « Food Research », 5, 487, 1940.

(186) Beatty S. A. e Gibbons N. E.: « Biol. Board Can. Prog. Rep. Atl. St. », 15, 4, 1935.

(187) Jones N. R.: « J. Sci. Food Agric. », 10, 431, 1959.

(188) Boge G.: « J. Sci. Food Agric. », 11, 362, 1960.

(189) Bramstedt F.: « Allgemeine Fischwirtschaftszeitung », 20, 21, maggio 1955, da « R.A.P.M. », 7 (3), 33, 1956.

(190) Lutkon A. e Olcott H. S.: « Food Research », 23, 611, 1958.

(191) Yudaev H. A.: « Dokladi Akad. Nauk. SSSR », 70, 279, 1950, da « Chem. Abstracts », 45, 4842, 1951.

(193) Shewan J. M.: « J. Sci. Food Agric. », 394, 1952.

(194) Shewan J. M.: « J. Sci. Food Agric. », 4, 565, 1953.

(195) Shewan J. M.: « J. Sci. Food Agric. », 6, 99, 1955.
(192) Shewan J. M.: « Biochemical Soc. Symposia », 6, 1951, 37.
(196) Davey C. L.: « Nature », 179, 209, 1957.
(197) Jones N. R.: « Biochem. Journal », 68, 81, 1955.
(198) Hughes R. B.: « J. Sci. Food Agric. », 10, 558, 1959.
(199) Kimata M., Kawai A. e Tanaka M.: « Bull. of Res. Inst. of Food Sci. Kyoto Univ. », 12, 24 e 34, 1953.
(200) Tomiyasu Y. e Zenitani B.: « Advances in Food Res. », 7, 42, 1957.
(201) Shimizu W., Ikeda S. e Kurokawa Y.: « Bull. of Res. Inst. of Food Sci. Kyoto Univers. », 12, 49 e 56, 1953.
(202) Igarashi H.: « Sulle ptomaine del pesce ». Opuscolo 1949, *cit.* da Tomiyasu e Zenitani (200).
(203) Shimizu W. e Hibiki S.: « Bull. Japan Soc. Sci. Fish. », 19, 19, 1953.
(204) Kimata M. e Kawai A.: « Mem. Res. Inst. Food Sci. Kyoto Univ. », 5, 25, 1942.
(205) Kawabata T.: « Scienze (Japan) », 25, 336, 1955.
(206) Notevarp O., Hjorth-Hansen S. e Karlsen O.: « Fiskeridirekt. Scrifter », 1, 3, 1942.
(207) Cutting C. L.: « J. Sci. Food Agric. », 4, 497, 1953.
(208) Dyer W. J. e Castell C. H.: « J. Fish. Res. Bd. Can. », 7, 535, 1949.
(209) Cutting C. L.: « Food Invest. Bd. Rept. », Gran Bretagna, 89, 1938.
(210) Yamamoto M. e Sonehara M.: « Bull. Japan Soc. Sci. Fish. », 19, 761, 1953.
(211) Van Deurs J. A. e Hoff-Jorgensen E.: « Chimie et Industrie », 36, 1217, 1936.
(212) Elliot R. P.: « Food Research », 12, 87, 1947.
(213) Kawabata R., Fujimaki M., Amano K. e Tomika F.: « Bull. Japan Soc. Sci. Fish. », 18, 124, 1952.
(214) Collins V. K., Kuchel C. C. e Beatty S. A.: « J. Fish. Res. Bd. Can. », 5, 203, 1941.
(215) Poloektoff A. M.: « Zeit. Fleisch. u. Milch. », 43, 121, 1933.
(216) Yamamura Y.: « Bull. Japan Soc. Sci. Fish. », 2, 118, 1933.
(217) Hyorth-Hansen S.: « Tids. Kjemi Bergvesen. », 15, 153, 1935, in « Chimie et Industrie », 36, 1015, 1936.
(218) Misericordia F.: « Atti Soc. It. Sci. Vet. », 8, 443, 1954.
(219) Cavallone E.: « Atti VII Giornate Vet. Prodotti della Pesca », Ancona, 1960 (in corso di stampa).
(220) Bate-Smith E. C.: « J. Physiol. », 92, 336, 1938.
(221) Van Slyke D. D.: « J. Biol. Chem. », 52, 525, 1922.
(222) Notevarp O. e Hjorth-Hansen S.: « Aarsberetn. Norg. Fish. », 3, 39, 1932.
(223) Stanby M. E. e Lemon J. M.: « Ind. Eng. Chem. Anal. Ed. », 5, 208, 1938.
(224) Cutting C. L.: « Food Invest. Bd. Rept. », Gran Bretagna, 78, 1937.
(225) Beatty S. A. e Gibbons N. E.: « J. Biol. Bd. Can. », 3, 77, 1937.
(226) Nacker R.: « Zeit. Lebensmitt. Untersuch. », 90, 361, 1950.
(227) Shimizu W. e Hibiki S.: « Bull. Japan Soc. Fish. », 20, 298 e 392, 1953.
(228) Kimata M.: « J. Imp. Fisheries Inst. (Japan) », 34, 115, 1941.
(229) Shimizu W., Hibiki S. e Nagasaki S.: « Bull. Japan. Soc. Sci. Fish. », 20, 804, 1955.
(230) Matsuura F., Konasu S., Ota R., Katori S. e Tanaka K.: « Bull. Japan Soc. Sci. Fish. », 20, 941, 1955.
(231) Shimizu W. e Hibiki S.: « Bull. Japan Soc. Sci. Fish. », 20, 206, 1954.
(232) Kawabata T. e Terui H.: « Bull. Japan Soc. Sci. Fish. », 18, 525-19, 741 e 746, 1953

(233) Suyama M., Tukuhiro T. e Suyama Y.: « Bull. Japan Soc. Sci. Fish. », 15, 211, 1950
(234) Shimizu W. e Oishi K.: « Bull. Japan. Soc. Sci. Fish. », 16, 423, 1951.
(235) Suyama M. e Tokuhiro T.: « Bull. Japan Soc. Sci. Fish. », 19, 935, 1954.
(236) Takahashi T. e Tanaka R.: « Bull. Japan Soc. Sci. Fish. », 15, 777, 1950.
(237) Shimizu W. e Oishi K.: « Bull. Japan. Soc. Sci. Fish. », 16, 423, 1951.
(238) Elliot R. P. « Food Research », 17, 225, 1952.
(239) Shimizu W., Hibiki S. e Fujita M.: « Bull. Japan Soc. Fish. », 19, 882, 1953.
(240) Reay G. A.: « J. Soc. Chem. Ind. », London, 52, 265 T, 1933.
(241) Dyer W. J., French H. W. e Snow J. M.: « J. Fish. Res. Bd. Can. », 7, 585, 1950.
(242) Dyer W. J.: « Proceding Simposium on cured and frozen fish. », Goteborg, 1953.
(243) Wood J. D.: « J. of the Fish. Research of Can. », 16, 755, 1959.
(244) Nikkila O. E. e Linko R. R.: « Food Research », 19, 200, 1954.
(245) Ironside J. J. M. e Love R. M.: « Nature », 178, 418, 1956.
(246) Seagran H. L.: « Food Research », 21, 205, 1956.
(247) Piskarev A., Krylon G., Lukiannitsa L.: « R.A.P.M. », 11 (2), 23, 1960.
(248) Moorjani M. N., Montgomery W. A. e Coote G. C.: « Food Research », 25, 263, 1960.
(249) Stewart M. M.: « J. Soc. Chem. Ind. », London, 54, 92 T, 1935.
(250) Crooks G. C. e Ritchie W. S.: « Food Research », 3, 589, 1938.
(251) Costa D. e Cannella C.: « Ann. Chim. Appl. », 30, 402, 1940.
(252) Stille V.: « Zeit. ges. Kalteind. », 48, 176, 1941.
(253) Luijpen A. F. M. G.: « J. Sci. Food Agr. », 9, 410, 1958.
(254) Reay G. A.: « Chem. and Ind. », 54, 145, 1935.
(255) Shewan J. M.: « Ann. Rept. Food Invest. Bd. », Gran Bretagna, 75, 1938.
(256) Stansby M. E.: « Food Technology », 12, 260, 1958.
(257) Kurtzman C. H., Snyder D. G. e Nilson H. W.: « Food Research », 25, 237, 1960.
(258) Hillig F., Shelton L. R., Loughrey J. H. e Fisner J.: « Journal of the Ass. of Off. Agr. Chem. », 41, 763, 1958.
(259) Montefredine A.: « Atti Soc. It. Sci. Vet. », 9, 469, 1955.
(260) Tillmans J. e Otto R.: « Zeit. Unters. Nahr. Genussmittel. », 47, 25, 1924.
(261) Shimizu M.: « J. Agr. Chem. Soc. Japan. », 1, 730, 1925.
(262) Glassmann B. e Rochwarger S.: « Zeit. Untersuch. Lebensmitt. », 58, 585, 1929.
(263) Tanikava E.: « Bull. Soc. Fish. Tech. », Japan, 3, 267, 1935.
(264) Lucke F. e Geidel W.: « Zeit. Untersuch. Lebensmitt. », 70, 441, 1935).
(265) Van Slike D. D. « Journal of Biol. Chem. » 10, 15, 1911; 22, 281, 1915; 23, 411, 1915.
(266) Reay G. A.: « Ann. Rept. Food Invest. Bd. », Gran Bretagna, 69, 1937.
(267) Hjorth-Hansen S.: « Fisheridirekt. Skrifter », 1, 3, 1942.
(268) Pialek M.: « Przemyst Rolny i Spozywczy », 5, 63, 1951, « R.A.P.M. », 4 (5), 45, 1953.
(269) Goncalves-Ferreira F. A., Ferreira A. e Lucinda Mano M.: « Conservas de peixe », 11, (123, 124,) 18 e 20, 1956 da « Ind. Conserve », 33, 345, 1958.
(270) Tomiyama T., Ide K. e Akiyama T.: « Bull. Japan. Soc. Sci. Fish. », 17 (7), 19, 1952.
(271) Tomiyama T. e Harada Y.: « Bull. Japan Soc. Sci. Fish. », 18 (3), 112, 1952.
(272) Tomiyama T.: «Bull. Japan Soc. Sci. Fish. », 17 (12), 405, 1952.
(273) Tsuchiya Y. e Kayama M.: « Tohoku J. Agr. Res. », 5, 37, 1954.
(274) Cavallone E.: « Atti Soc. It. Sci. Vet. », 11, 635, 1957.
(275) Montgomeri W. A.: « Comm. Fish. Abstracts », 10 (12), 17, 1957.

276) Conway E. J. e Byrne A.: « Biochem. J. », 27, 419, 1933.
277) Partmann W.: « Zeit. Lebensmittel-untersuchung und forschung », 93, 341, 1951.
278) Rieman H.: « R.A.P.M. », 5 (6), 45, 1954.
279) Ota F.: « Bull. Japan Soc. Sci. Fish. », 16, 264, 1950 e 17, 309, 1952.
280) Ota F. e Osiro Z.: « Bull. Japan. Soc. Sci. Fish. », 19, 1130, 1954.
281) Wierzchowsky J, Borovika J. e Severin M.: « R.A.P.M. », 6 (1), 47, 1955; Wierzchowsky J.: « R.A.P.M. », 6 (1), 45, 1955.
282) Amano K.: « R.A.P.M. », 6 (1), 45, 1945.
283) Shimizu W. e Oishi K.: « Bull. Japan Soc. Sci. Fish. », 16, 46, 1951.
284) Gagliardi: « La Clinica Veterinaria », 166, 1927.
285) Testa C.: « Atti Soc. It. Sci. Vet. », 9, 481, 1955.
286) Hjorth-Hansen S. e Barken K.: « Fiskedirekt. Skrifter. », 1, 65, 1947.
287) Lintzel W.: « Biochem Z. », 273, 243, 1934.
288) Hol'mov P.: « Voprosy Pitaniya », 8 (4), 73, 1939, *cit.* da Soudan (124).
289) Dyer W. J.: « J. of the Ass. Off. Agr. Chem. », 42, 292, 1959.
290) Luise M. e Perna A.: « VII Giornate Vet. Prodotti della Pesca », Ancona, 1960 (in corso di stampa).
291) N. N.: « Natura », London, 181, 1281, 1958.
292) Castell C. H. e Triggs R. E.: « J. Fish. Res. Bd. Can. », 12, 329, 1955.
293) Nikkila O. E.: « Suomen Kemistilehti », 24, 54, 1950, in « R.A.P.M. », 3 (4), 19, 1951.
294) Wierzchowski J., Kasinki W. e Drabilowska H.: « R.A.P.M. », 6 (5), 47, 1955.
296) Horje S. e Sekine Y.: « J. Tokio Univ. of Fish. », 45, 25, 1956.
297) Dussault H. P.: « Progress Reports Atlant Coast Stations », 67, 23, 1957.
295) Good Ch. M. e Stern J. A.: « Food Technology », 9, 327, 1955.
298) Castell C. H., Greenough M. F., Rodgers R. S. e Macfarlane A. S.: « Journal of the Fish. Res. Bd. Can. », 15, 701, 1958.
299) Gronniger H. S.: « Commercial Fisheries Review», 20, 23, 1958.
300) Varela G. e Wojciech R.: « Anales de Bromatologia », 8, 5, 1956.
301) Brocklesby H. N. e Riddel W. A.: « Biol. Bd. Can. Prog. Rept. Pac. St. », 33, 17, 1937.
302) Yemm E. W. e Cocking E. C.: « Analyst », 80, 209, 1955.
303) Hodgkiss W. e Jones N. R.: « The Biological Journal », 61, 1, 1951.
304) Miyauchi D. T. e Malins D. C.: « Comm. Fish. Review », 19, 26, 1957.
305) Ranke B.: « Archiv fur Fishereiwissenschaft », 10, 117, 1919 e 11, 18, 1960.
306) Williams D. W.: « J. of the Ass. Off. Agr. Chem. », 37, 567, 1954 e 39, 609, 1956.
307) Hanke M. T. e Koessler K. K.: « J. Biol. Chem. », 43, 543, 1920.
308) Rosenthal S. M. e Tabor H.: « J. Pharmacol. Exptl. Therat. », 92, 425, 1948.
309) Ota F.: « Bull. Japan Soc. Sci. Fish. », 24, 37, 1959.
310) Mcintire F. C., White F. B. e Spaull M.: « Arch. Biochem. », 29, 376, 1950.
311) Tarr H. L. A. e Bailey B. E.: « J. Fish. Res. Bd. Can. », 4, 327, 1939.
312) Folin O. e Ciocalteu V.: « J. Biol. Chem. », 73, 627, 1927.
313) Ota F. e Ajisaka H.: « Memoirs of the Fac. of Fish. », Kagoshima Un., 3 (1), 98, 1953.
314) Luijpen A.F.M.G.: « Symposium on cured and Frozen Fish. », Goteborg, 1953.
315) Suzuki T.: « Bull. Japan Soc. Sci. Fish. », 19, 102 e 106, 1953.
316) Hillig F.: « J. of the Ass. Off. Agr. Chem. », 37, 927, 1954.

(317) Hillig F.: « J. of the Ass. Off. Agr. Chem. », 39, 773, 1956.

(318) Vedi (258).

(319) Porter J. R.: « Bacterial Chemistry and Physiology », Wiley e Sons N. Y., 946, 1946.

(320) Hillig F., Patterson W. I. e Maclean M.: « J. Ass. Off. Agr. Chem. », 33, 842, 1950.

(321) Hillig F.: « J. of the Ass. Off. Agr. Chem. », 41, 776, 1958.

(322) Jacone M.: « Atti VI Giornate Vet. Prodotti della Pesca », Ancona, 131, 1959.

(323) Asakawa S.: « Bull. Japan Soc. Sci. Fish. », 20, 158, 1954.

(324) Asakawa S.: « Bull. Japan Soc. Sci. Fish. », 23, 463, 1957.

(325) Orlandi V.: « Atti Soc. It. Sci. Vet. », 9, 427, 1955.

(326) Strohecher R., Vaubel R. e Kirchberg H.: « Z. Anal. Chem. », 110, 1, 1937.

(327) Tomiyasu Y., Toyomizu M. e Takahashi K.: « Bull. Japan Soc. Sci. Fish. », 12, 391, 1951.

(327 *bis*) Testa e Simongini G.: « VII Giornate Vet. Prodotti della Pesca » Ancona 1960 (in corso di stampa).

(328) Farber L.: « Food Technology », 3, 300, 1949.

(329) Farber L.: « Food Technology », 6, 319, 1952.

(330) Farber L. e Cederquist A.: « Food Technology », 7, 478, 1953.

(331) Farber L. e Ferro M.: « Food Tecnology », 10, 303, 1956.

(332) Farber L. e Lerke P. A.: « Food Technology », 12, 677, 1958.

(333) Schmist P. J. e Mayon H. M.: « Progress Reports of Pac. Coast Can. », 102, 22, 1955

(334) D'Orazio D.: « Atti Soc. It. Sci. Vet. », 9, 475, 1955.

(335) D'Orazio D.: « Atti III Giornate Vet. Prodotti della Pesca », Ancona, 107, 1956.

(336) Truttwin H.: « Zeit. Lebensmittel-Untersuchung u. Forschung », 97, 275, 1953.

(337) Truttwin H.: « Zeit. Lebensmittel-Untersuchung u. Forschung », 99, 461, 1954.

(338) Truttwin H.: « Zeit. Lebensmittel-Untersuchung u. Forschung », 102, 426, 1955.

(339) Orlandi V.: « Atti Soc. It. Sci. Vet. », 8, 473, 1954.

(340) Amano K. e Utiyama H.: « Bull. Japan Soc. Sci. Fish. », 14, 48 e 169, 1948.

(341) Amano K.: « R.A.P.M. », 3 (1), 41, 1952.

(342) Walkewicz: *Cit.* da Parpaglioni, in « Atti Soc. It. Sci. Vet. », 2, 281, 1948.

(343) Amano K.: « R.A.P.M. », 6 (1), 45, 1955.

(344) Buffa A. e Ambonelli G.: « Industria delle Conserve », 29, 185, 1954.

(345) Orlandi V.: « Atti Soc. It. Sci. Vet. », 8, 473, 1954.

(346) Orlandi V.: « Atti III Giornate Vet. Prodotti della Pesca », Ancona, 111, 1956.

(347) Sasaki R. e Fujimaki M.: « J. Agr. Chem. Soc. Japan », 24, 452, 1951.

(348) Bernheim F., Bernheim M. L. C. e Wilbur K. M.: « J. Biol. Chem. », 174, 275, 1948

(349) Fridriksdottir S.: « R.A.P.M. », 5 (4), 47, 1954.

(350) Yu T. C. e Sinnuber R. O.: « Food Technology », 11, 104, 1957.

(351) Schwartz M. G. e Watts B. M.: « Food Research », 22, 76 (1957).

(352) Ryan B. A. e Stansby M. E.: « Comm. Fisheries Review », 21, 21, 1959.

(352 *bis*) Dreywood R. « Ind. Eng. Chem. Anal. Ed. » 18, 499, 1946.

(353) Obata Y. e Zama K.: « Bull. Japan Soc. Sci. Fish. », 15, 499, 1950.

(354) Bortone L. e Testa C.: « Atti III Giornate Vet. Prodotti della Pesca », Ancona, 123, 1956.

(355) Kamasastry P. V.: « R.A.P.M. », 9 (5), 47, 1958.

(356) Suryanarayana Rao S. V., Rajendranathan Nayar M. e Valsan A. P.: « R.A.P.M. », 8 (6), 45, 1957.

(357) Moorjani M. N., Iyengar J. R., Bhathia D. S. e Subrahmanyan V.: « Food Science », 6, 275, 1957.

(358) Cavallone E.: « Atti V Giornate Vet. Prodotti della Pesca », Ancona, 283, 1958.

(359) Cavallone E.: « Atti Soc. It. Sci. Vet. », 12, 480, 1958.

(360) Novak A. F., Fieger E. A. e Baley M. E.: « Food Technology », 10, 66, 1956.

(361) Uno T. e Tokimaya T.: « Bull. of the Hokkaido reg. Research Lab. », 25, 396, 1954.

(362) Proctor B. E., Nickerson I. T. R., Fazzini T. C., Ronsivalli L., Smith R. K. e Stern Y.: « Food Technology », 13, 224, 1959.

(363) Love R. M.: « J. Sci. Food Agr. », 5, 556, 1954 e 7, 220, 1956.

(364) Benson C. C.: « J. Biol. Chem. », 78, 583, 1928.

(365) Charnley F. e Goard D. H.: « Can. J. Research », 20 D, 20, 1942.

(366) Dal Monte P.: « Rivista di Medicina Veterinaria e Zonoteca », 6, 167, 1954.

(367) Giannelli F.: « Atti Soc. It. Sci. Vet. », 8, 463, 1954.

(368) Braccio G.: « Atti Soc. It. Sci. Vet. », 8, 466, 1954.

(369) Caracciolo S. e Perna A.: « Atti Soc. It. Sci. Vet. », 12, 479, 1959.

(370) Perna A.: « Atti Soc. It. Sci. Vet. », 12, 488, 1959.

(371) Zeiser Th. e Schwatz W.: « Zbt. Bacteriol. 2 Abt. », 105, 15, 1942.

(372) Bose A. N. e Roy Chowdury D.: « J. Proc. Inst. Chem. », 31, 171, 1959, in « Chem. Abstracts », 54, 12416, 1960.

ATTACCO DOCUMENTATO DI PESCECANE *(CARCHARODON CHARCHARIAS)*

GIORGIO BINI

Nel settembre 1956 alle ore 18,30 sulla secca del Faro, un miglio e mezzo circa al largo di S. Felice Circeo, in una profondità di 16 metri, il subacqueo dott. Goffredo Lombardo mentre era in esplorazione nuotando lentamente raso terra, sentì un gran colpo dietro la nuca e spinto da una forza sconosciuta sbandò qualche metro verso destra.

La formidabile dentatura del pescecane.

La prima impressione fu come se gli fosse passata sul collo la chiglia di un motoscafo. Senza capire bene di che cosa si trattava girò la testa per guardarsi intorno e a tre metri circa di distanza vide sfilare l'enorme sagoma di uno squalo, il quale dopo un breve giro ritornò prontamente verso il subacqueo, aprendo e chiudendo ritmicamente le fauci munite di grossi denti triangolari.

Lo squalo issato sulla banchina del porto di Terracina

Giunto a circa mezzo metro, il dott. Lombardo, con sangue freddo eccezionale colpì con la punta dell'arpione, senza sparare, ma appoggiando tutto il peso del corpo sul fucile, una zona in vicinanza dell'occhio, scartando contemporaneamente da un lato. Lo squalo deviò e dalle fessure branchiali con un fre-

mito uscì quasi come un brontolio. Con un largo giro, attaccò per la seconda volta con la stessa successione di eventi verificatasi la prima.

Senza mai perdere di vista lo squalo, il dott. Lombardo intanto cercava lentamente di ritornare in superficie e prima di arrivare a pelo d'acqua contò in tutto cinque attacchi. L'ultimo mentre sentiva emergere le bombole. Approfittando del fatto che lo squalo si era voltato, provò ad alzare un attimo il volto per vedere se c'era il motoscafo. Non lo vide, ma rituffando immediatamente il viso in acqua si trovò di nuovo lo squalo a dieci centimetri e a fatica riuscì a colpirlo per la sesta volta, sempre vicino all'occhio. L'ultimo e settimo attacco fu il più pericoloso perchè il pescecane aveva fatto un largo giro e il subacqueo non riusciva a capire da che parte sarebbe sbucato. Finalmente notò il suo gran corpo che voltava la coda di colpo, affondandosi. Il motoscafo che arrivava in quel momento l'aveva spaventato.

Risalito a bordo, come tracce visibili dell'avventura v'era la manica sinistra della tuta strappata dall'urto del primo attacco e la maniglia di ferro che è sopra all'erogatore del respiratore AGA e che in immersione era situata sopra la nuca, contorta e con visibili segni dei denti in tre punti.

La presenza di un grosso squalo in quella zona era nota da circa un anno ai pescatori, che pur senza averlo mai visto, avevano sofferto perdite di attrezzi e lacerazioni di reti.

Convinto che si trattasse sempre dello stesso animale, a distanza di sette giorni, il dott. Lombardo ritornò sul posto con una completa attrezzatura di lenze e ami d'acciaio speciali e riuscì a catturare il bestione di cui si riportano le fotografie.

La lunghezza totale era di 420 centimetri e il peso oltre i sei quintali. La specie, come è anche chiaramente visibile dalle fotografie era *Carcharodon charcarias.*

Ho creduto interessante riportare questa notizia di cui soltanto da poco sono venuto a conoscenza, poichè i casi documentati di catture di questa specie nei mari italiani, non sono molti e quelli di attacchi all'uomo ancora meno.

Penso anzi che questa sia l'unica volta in cui un sommozzatore sia riuscito a salvarsi incolume da un assalto di *C. charcarias.*

Un'altra cosa è da rilevare in questa avventura, Il fatto cioè, che una specie considerata vagabonda e pelagica quale è il Pescecane, si sia dimostrata di abitudini quasi stanziali, avendo eletto a suo territorio di caccia una zona relativamente ristretta e costiera (l'ampiezza della secca è di poche miglia quadrate) per un tempo relativamente lungo.

Riassunto

Attacco di un pescecane (*Carcharodon charcarias* L.) ad un sommozzatore nelle acque del Circeo a circa m 16 di profondità e a un miglio e mezzo dalla costa. Dopo sette assalti consecutivi, respinti dal subacqueo con la punta

lell'arpione, lo squalo si allontanò probabilmente spaventato dal rumore del notoscafo. La settimana successiva fu catturato con la lenza, nello stesso uogo. Si trattava di un esemplare femmina del peso di circa 6 quintali e ungo cm 420.

Résumé

On décrit l'assaut d'un requin contre un plongeur dans les eaux du 'irceo à environ un mille et demi de la côte et à une profondeur de 16 mè-res. Après 7 assauts consécutifs, refoussés par le plongeur à l'aide d'un arpon, le requin disparut épouvanté probablement par le bruit du bateau moteur. La semaine suivante il fut capturé avec une ligne dans le même eu. Il s'agissait d'un exemplaire femelle ayant une longueur de 420 centi-ètres et un poids d'environ 6 quintaux.

Summary

Attack of white shark on a skin diver in the Thyrrenian Sea, one and alf miles of S. Felice Circeo at a depth of about fifty feet.

Following seven subsequent attacks repulsed by the diver with the aid his harpoon-gun, the shark disappeared probably frightened of by the otor-boat.

The next week the shark was captured by hook and line in the same ace. It was a female specimen measuring 13 feet and ten inches and weighing 320 pounds.

NORME PER GLI AUTORI

1° I lavori che vengono inviati alla Redazione per essere pubblicati nel « Bollettino di Pesca, Piscicoltura e Idrobiologia » devono essere dattilografati e corretti.

2° I lavori dovranno riportare un breve sunto in italiano, francese ed inglese.

3° Per la bibliografia è assolutamente necessario attenersi alle seguenti norme:

a) cognome dell'Autore e iniziale del nome con doppia sottolineatura;

b) anno di pubblicazione tra parentesi;

c) titolo del lavoro sottolineato;

d) indicazione del periodico tra virgolette, secondo le norme internazionali per l'abbreviazione;

e) numero in arabo del volume sottolineato;

f) numero in arabo della pagina.

Es.: RILEY G. A. (1938): *The measurement of phytoplankton.* « Int. Rev. Hydrobiol. », *36*, 371.

Se il periodico è formato da memorie o numeri progressivi indicare come segue:

Es.: SANZO L. (1938): *Uova, larve e stadi giovanili di Seriola Dumerilii Risso.* « Mem. Com. talassogr. ital. », n. 205.

Se trattasi di un'opera indicare oltre il nome dell'Autore, il titolo e l'anno, anche la casa editrice e il luogo di pubblicazione.

Es.: CHAPMAN R. N. (1931): *Animal Ecology*, Mc Graw. Hill Book Co., New York and London.

Tenere presente che l'abbreviazione del « Bollettino di Pesca, Piscicoltura e Idrobiologia » vascritta nel modo seguente: « Boll. Pesca Pisc. Idrobiol. ».

4° Tutta la nomenclatura latina, che deve essere stampata in corsivo, va sottolineata, mentre i nomi in italiano che si riferiscono a tipi, ordini, classi, ecc., vanno scritti con la prima lettera maiuscola.

5° Per i numeri decimali usare le virgole e non punti, così nel testo come nelle tabelle.

6° I disegni e i diagrammi devono essere tracciati ad inchiostro di Cina solo su carta bianca o lucida, e devono portare le indicazioni in lettere o numeri ben scritte in stampatello.
I disegni o diagrammi che per ragioni tecniche non sono riproducibili saranno nuovamente disegnati a spese dell'Autore.

7° Non si accettano fotografie che non siano riproducibili.

8° Si raccomanda agli Autori di limitare le tabelle, i disegni, i diagrammi e le fotografie allo stretto indispensabile; in caso contrario la Redazione si riserva di scartare quelli che a suo giudizio ritiene superflui per la pubblicazione.

9° Agli Autori spettano 30 estratti gratuiti. Le spese per un numero maggiore di estratti saranno a loro carico.

PREZZO L. 600

ISTITUTO POLIGRAFICO DELLO
STATO G. C. - ROMA, 196